

НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
“Київський політехнічний інститут ім. Ігоря Сікорського”

Факультет біотехнології і біотехніки

Кафедра екобіотехнології та біоенергетики

ДИПЛОМНИЙ ПРОЕКТ

рівня вищої освіти “бакалавр”

спеціальності Екобіотехнологія та біоенергетика

на тему: «Культивування мікроводоростей з подальшим одержанням біодизельного палива»

Студента групи БЕ-51

Астахової Владислави Ігорівни

Керівник проекту: Левтун Ігор Ігорович

Проект захищено з оцінкою _____

Дата захисту _____

Київ 2019

					ЕКБ.БЕ5101.ДП						
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата							
Розроб.	Астахова В.І.				Культивування мікроводоростей з подальшим одержанням біодизельного палива			Літ.	Арк.	Аркушів	
Перевір.	Левтун І.І.									73	
Реценз.								КПІ ім. І. Сікорського, ФБТ			
Н. Контр.											
Затверд.	Левтун І.І.										

ЗМІСТ

ВСТУП

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Характеристика та переваги мікроводостей в якості енергоджерела

1.1.1. Характеристика та перспективи використання мікроводоростей у енергетиці

1.1.2. Обґрунтування вибору виду мікроводоростей для подальшого отримання біомаси.

1.2. Біосинтез цільової речовини

1.2.1. Характеристика ліпідів як цільового продукту в області енергетики

1.2.2. Біохімія синтезу ліпідів

1.2.3. Технології вилучення ліпідів з мікроводорстей

1.2.4. Обґрунтування вибору технології вилучення ліпідів для подальшої переробки у біодизель.

1.3. Характеристика живильного середовища для подальшого культивування

1.3.1. Характеристика живильних середовищ

1.3.2. Склад живильних середовищ

1.3.3. Приготування живильних середовищ

1.3.4. Обґрунтування вибору складу поживного середовища для подальшого культивування

1.4. Характеристика технологій культивування

1.4.1. Характеристика технологій культивування мікроводоростей

1.4.2. Обґрунтування вибору технології культивування

1.5. Характеристика обладнання

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						2
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

1.5.1.	Характеристика фотобіореакторів
1.5.2.	Вибір фотобіореактору та його обґрунтування
1.6.	Висновки до розділу
РОЗДІЛ 2. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА	
2.1.	Опис технологічного процесу
2.2.	Розрахунок фотобіореактора
2.3.	Матеріальний баланс
РОЗДІЛ 3. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДІВКІЛЛЯ	
ВИСНОВКИ	
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	
ДОДАТКИ	

ВСТУП

В останні роки прискорений розвиток біоенергетики став глобальною та загальносвітовою тенденцією. Більше 100 провідних компаній з 17 країн світу займаються дослідженнями та розробками технологій, а також проектуванням та будівництвом об'єктів для біопаливної промисловості і виробництва відновлювального палива [1].

Постановка проблеми: В умовах зростаючих цін на традиційні види палива та постійне зменшення кількості їх запасів, у світі проявляється енергетична криза. В якості основної тенденції розвитку паливного ринку міжнародними експертами заявлена саме біоенергетика, що повинна стати фундаментом для початку нової ери енергетики задля вирішення даної проблеми.

На першому етапі розвитку технологій отримання моторних палив з біомаси усі зусилля були сконцентровані на удосконаленні технології виробництва етанолу з рослинної (харчової) сировини, потім біоетанолу та біобутанолу з нехарчової лігніно-целюлозної сировини. Тим часом, стало зрозумілим, що спирти для заправки в існуючих двигунах можна використовувати тільки як добавки до традиційного палива, але вони не можуть замінити його повністю. Спроби укомплектувати паливну базу за рахунок спиртів для більшості країн виявились технічно та економічно неефективними як через необхідність державних дотацій на виробництво біопалива, переробку двигунів та модифікацію інфраструктури, так і через недостатню теплотворну здатність спиртів. Паралельно з розвитком промисловості паливного біоетанолу були здійснені спроби по створенню дизельного палива з рослинних олій, в основному – на основі ріпаку. Проте низька урожайність даної культури та пониження розвитку даної галузі сільського господарства в якості харчового напрямку виявилась вагомою перешкодою. Сьогодні людство є свідком нової революції в області

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						4
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

отримання з нехарчової відновлюваної сировини палив, що практично за своїми властивостями не відрізняються від традиційних палив та здатні в майбутньому замінити їх. Дане паливо не потребує конструкційної дорого-бюджетної переробки двигунів, що пристосовані до роботи на паливі нафтового походження. Йдеться про створення промисловості традиційного моторного палива на основі нового типу відновлюваної сировини, в якості якої були обрані водорості. [2]

Актуальність. Можливість використання біопалива (біодизелю) в якості вирішення як економічних, так і екологічних проблем сучасності: заміщення викопних ресурсів, диверсифікація джерел енергії для забезпечення країн-імпортерів енергетичною безпечністю, додаткове виробництво в аграрному секторі економіки конкурентноспроможної експортної продукції, скорочення емісії парникових газів в атмосферу.

Також, використання саме мікроводоростей, в якості сировини, дозволяє уникнути проблеми конкуренції з сільськогосподарською промисловістю (у випадку з використанням соняшника, рапса, тощо в якості сировини для отримання олії).

Використання закритих систем культивування (біореакторів) дозволяє уникнути проблеми впливу сезону, залежності від природнього освітлення та умови росту на культивування.

Мета і задача роботи. Метою роботи є проектування технології культивування мікроводоростей, в якості сировини для одержання біодизельного палива.

Для досягнення мети передбачено виконання таких задач:

1. Провести літературний огляд стосовно існуючих видів мікроводоростей у якості енерго-джерела, умов, параметрів та технологій їх культивування, а також біосинтез біодизелю та можливість використання його корисних побічних продуктів.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						5
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

2. Обґрунтувати вибір раціональних параметрів культивування мікроводоростей для отримання біодизелю.

3. Розрахувати технічні показники обраного типу фотобіореактора для культивування мікроводоростей та матеріальний баланс.

4. Характеризувати пропозиції та заходи щодо забезпечення охорони праці, техніки безпеки, охорони довкілля.

5. Розробити технологічну і апаратурну схеми культивування мікроводоростей з подальшим одержанням біодизельного палива.

6. Розробити креслення обраного типу фотобіореактора.

Об'єкт дослідження. Процес культивування мікроводоростей для одержання біодизельного палива.

Предмет дослідження. Раціональні параметри процесу культивування мікроводоростей за використання фотобіореактора.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						6
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Характеристика та переваги мікроводоростей в якості енергоджерела.

1.1.1. Характеристика та перспективи використання мікроводоростей у енергетиці.

Водні рослини в даний час не використовуються в якості сировини для виробництва біопалив. Однак, перспективність такого використання незаперечна. Одним з найважливіших переваг водних рослин перед наземними є надзвичайно висока продуктивність, тобто вихід біомаси з одиниці площі в одиницю часу; за цим показником окремі види водних рослин перевершують наземні в кілька разів. Вже є десятки проектів з промислового культивування водоростей як в відкритих водоймах, так і в спеціальних реакторах. Унікальною особливістю водоростей є здатність деяких видів накопичувати в своїй біомасі до 80% ліпідів або вуглеводнів, що дає підставу вважати їх вельми перспективною сировиною для виробництва рідких біопалив (біодизель або біонафта).

За даними [3] сумарне виробництво етанолу і біодизеля з різних видів біомаси в 2014 році досягло близько 3% всього обсягу споживаних в світі моторних палив. В останні роки інтерес дослідників і увагу виробників привертає біоенергетичний потенціал фотосинтезуючих мікроводоростей, причому фінансування досліджень і розробок в цій галузі в усьому світі неухильно росте [4]. Мікроводорості за своїм розміром вони стоять поряд з мікроорганізмами (бактеріями та ін.), але істотно відрізняються від них наявністю хлорофілу; саме тому їх відносять до рослин. Мікроводорості здатні жити не тільки у водних середовищах, отже, їх можна розглядати не тільки як водні рослини.

Клітини мікроводоростей накопичують у стресових умовах велику кількість ліпідів, що являють собою біоенергетичну сировину, та які за

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						7
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

допомогою стандартних технологічних процесів можна переробити у біодизельне паливо – замітник дизельного пального з нафти [5].

Загальний вміст ліпідів у клітинах водоростей коливається у значному діапазоні. У синьо-зелених водоростей в залежності від виду – від 2% до 18% від сухої біомаси, у жовто-зелених – від 5% до 10%, у деяких зелених може досягати 37,3%, у діатомових - 35%, у генномодифікованих водоростей роду *Nannochloropsis* може сягати до 70% [6].

Кількість та якісний склад ліпідів залежить від умов технологічного процесу культивування мікроводоростей та впливаючих на них параметрів (наприклад, пошук оптимального відношення накопичуваних ліпідів відносно швидкості накопичення біомаси).

Водорості поділяються на дев'ять груп, що розрізняються за складом пігментів, запасних речовин, структурою клітин і способами розмноження. З точки зору отримання біопалива становлять інтерес тільки деякі групи водоростей, такі як зелені, золотисті, діатомові, криптофітні, хаптофітні і синьо-зелені водорості.

Зелені водорості (Chlorophyta):

Зелені водорості вважаються попередниками зелених рослин. За своєю клітинною будовою та наявності двох форм хлорофілу і кольором вони найбільш нагадують клітини рослин. Запасний продукт такий же, як у рослин - крохмаль. Існує близько 8 тисяч видів цих водоростей, деякі з них відносяться до макроскопічних. В умовах дефіциту азоту (в умовах стресу) багато видів зелених водоростей можуть накопичувати ліпіди. Зелені водорості найбільш вивчені, з них *Chlorella* - одна з найбільш відомих зелених водоростей. Ця водорість широко використовується в якості добавок в їжу, особливо в країнах Азії. Багато представників зелених

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						8
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

водоростей добре ростуть в лабораторних і промислових умовах. Ряд компаній вирощують *Chlorella* в якості добавок в їжу: водорість містить до 45% білку і необхідні людині вітаміни.

Діатомові водорості (Diatomeae):

Найбільш широко поширені водорості в природі. Існує понад 100 тисяч видів цих водоростей. Їх легко можна знайти як в прісноводних водоймах, так і океанах у вигляді планктону в будь-який час року. Поряд з хлорофілом ці водорості містять велику кількість пігменту фукоксантину, що визначає їх буро-золотистий колір. Багато видів здатні до активного руху. Запасні продукти цих водоростей - олії, відкладаються в клітині у вигляді крапель, і хрізоламінарин. Основною рисою діатомових водоростей є наявність в їх клітинній стінці кремнію. У зв'язку з цим культивування цих водоростей є недешевим. Ростуть вони відносно повільно в порівнянні з іншими видами водоростей.

Золотисті водорості (Chrisophyta)

Золотисті водорості за своїм пігментним складом і запасним речовинам схожі на діатомові водорості, з тією різницею, що багато видів не містять кремнію в їх клітинних стінках. Водорості ці часом дуже химерної форми, що нагадують під мікроскопом чаші або екзотичні квіти. Існує до 500 видів цих організмів, зустрічаються в основному в прісноводних водоймах. На даний момент не відомо про культивування цих водоростей в лабораторних або промислових умовах.

Криптофітові водорості (Cryptophyceae)

Ця група включає близько 200 видів морських і прісноводних водоростей. Основні запасні продукти - крохмаль, хрізоламінарин і олія. Не

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						9
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

має інформації щодо культивування цих водоростей в промисловості. Найбільш широко поширений і багатий видами є рід *Cryptomonas*.

Хантофітові водорості (Haptophyta)

Ця група в основному морських водоростей (тому не є дуже рентабельним для культивування у промислових масштабах) включає близько 300-500 видів. Основні запасні речовини - олія і хрізоламінарін. Коричневий колір цих водоростей утворюється від пігменту фукоксантину. Багато водорості з цієї групи покриті пластинами з карбонату кальцію. Нічого невідомо про лабораторне або промислове культивування цих водоростей.

Синьо-зелені водорості (Cyanophyta)

Синьо-зелені водорості за внутрішньою будовою клітин це бактерії. Вони ще називаються ціанобактерії. Однак наявність хлорофілу і фотосинтезу з виділенням кисню відносить ці мікроорганізми до водоростей. Основний запасний продукт - крохмаль. Синьо-зелені водорості добре вивчені і прекрасно ростуть в лабораторних і промислових умовах, хоча і повільно. Ряд компаній в США, Індії, Китаї та Пакистані вирощують синьо-зелену водорість *Spirulina* для вживання в кормових цілях або в якості добавки в їжу; водорість містить до 70% білку і вітаміни. *Spirulina* вживалася в їжу ще в стародавній державі ацтеків, де її збирали на озерах. [5].

Серед зелених мікрводоростей як і серед синьозелених, об'єктами біотехнологічних досліджень є незначна їх частина.. Це головним чином представники *Chlamydomonadales Fritsch* (види *Chlamydomonas Ehr.*), *Dunaliellales Ettl* (*Dunaliella Teod.*), *Chlorococcales Marchand* (*Chlorella Beijer.*, *Chlorococcum Menegh.*, *Botryococcus Kutz.*), тощо. Здебільшого це

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						10
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

одноклітинні, колоніальні або ценобіальні форми.

Одноклітинні водорості, в яких домінує нерухома стадія, а рухливість або повністю відсутня (наприклад *Chlorella*), або обмежена репродуктивними фазами (*Chlorococcum*), мають колоїдний тип будови. Колоїдні форми зустрічаються в більшості класів водоростей.

Клітини *Chlorella vulgaris* кулясті, 5-10 мкм у діаметрі, мають чашоподібний хлоропласт. Це однопікелі водорості, розмір ядра яких близько 1 мкм.

Форма клітин *Chlamydomonas reinhardtii* Dang. є кулястою або яйцевидною, 14-22 мкм у діаметрі з одним ядром. На передньому кінці клітині розташовуються два джгутики, які в 1,5-2 рази довші за самі клітини. Біля основи джгутики розташовані дві пульсуючі вакуолі. Хлоропласт гладкий.

Деякі види синьозелених і зелених мікробіот водоростей здатні продукувати унікальні екзополісахариди з потенційно корисними властивостями. Ці полімери формують слизові піхви, чохла, виділяються в оточуюче середовище. Позаклітинні вуглеводи надзвичайно важливі для життєдіяльності водоростей. Вони забезпечують такі функції, як бар'єрна між клітинами і оточуючим середовищем, протекторна проти висушування, запобігання дії стресів в екстремальних умовах. Завдяки своїй аніонній природі вони відіграють важливу роль в іммобілізації іонів металів, незамінних або шкідливих для їх життя, що призводить до зниження їх концентрацій до мінімальних і є однією з актуальних екологічних проблем. При цьому отримується біомаса водоростей або препаратів екзополісахаридів, збагачена на певні іони металів. Розмножуються зелені водорості нестатевим і статевим шляхом, за допомогою вегетативних і

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						11
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

спеціалізованих клітин. В одноклітинних зелених водоростей роду *Dunaliella*, які не мають клітинної стінки, нестатеве вегетативне розмноження відбувається шляхом поділу клітини надвоє. Статевий процес у *D. salina* представляє собою гологамію, у результаті якої утворюється диплоїдна зигота. При проростанні зиготи відбувається редукційний поділ ядра і вегетативні клітини *D. salina* мають гаплоїдний набір хромосом [7].

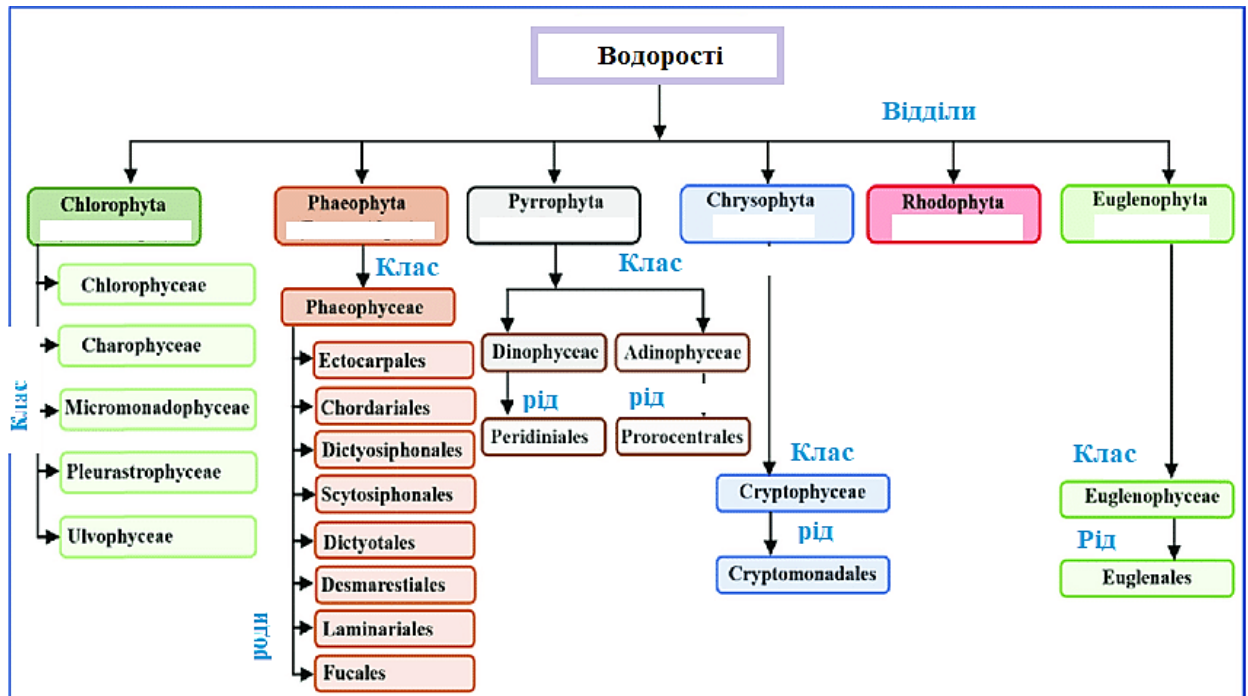


Рис.1.1. Класифікація водоростей.

Переваги біопалива з мікроводоростей, порівняно з виробництвом біопалива з рослинних олій [8]:

1. Вони містять велику кількість поліненасичених жирних кислот, які дозволяють біодизелю не втрачати якості пального при низьких температурах (робота в холодних умовах).
2. Вихід палива з мікроводоростей в 20 – 30 разів вищий, ніж із

рослин олійних культур при вирощуванні їх на однаковій площі.

Переваги та недоліки виробництва біопалива з водоростей в порівнянні з іншими методами показані в *Таблиці 1.1.*

Таблиця 1.1. Переваги та недоліки виробництва біопалива з водоростей, в порівнянні з іншими методами. [9]

Вид організму	Переваги	Недоліки
Мікрроводорості	1. Містять жирні кислоти, аналогічні рослинній олії. 2. Вміст ліпідів досягає 85% від сухої ваги біомаси. 3. Короткий цикл зростання. 4. Склад досить простий.	1. Більшість ліпідів дають низький вихід палива. 2. Вартість отримання олії вище, ніж з наземних рослин.
Бактерії, які продукують ліпіди	1. Швидке зростання.	1. Більшість видів бактерій продукують складні за складом ліпіди.
Дріжджі і гриби, які продукують ліпіди	1. Ресурси в природі безмежні. 2. Високий вміст ліпідів в деяких видах. 3. Швидке зростання в різних умовах.	1. Необхідність фільтрації і культивування. 2. Складні технології екстракції ліпідів. 3. Висока вартість культивування.
Олія зі	Низька вартість олії.	Вміст великої кількості

сміттєзвалищ		насичених жирних кислот, важко трансформуються в біопаливо.
--------------	--	---

Вартість біопалива, одержуваного з біомаси водоростей, становить від 3 до 16 \$ за 1дм³ . [10]

Згідно з [11] **переваги** біопалива з водоростей оцінюються з таких міркувань:

- висока конверсійна ефективність фотонів (приблизно 3 -8% проти 0,5% для наземних рослин), яка дає можливість отримувати більш високі врожаї біомаси на гектар), і високий ріст клітин мікробіодоростей;

- висока ємність поглинання вуглекислого газу;

- мікробіодорості не вибагливі до якості води для зростання, тому для їх культивування можна використовувати стічні, забруднені, солоні і інші води;

- мікробіодорості можуть використовувати в процесі життєдіяльності азот і фосфор з різних джерел стічних вод (наприклад, сільськогосподарські стоки, промислові та муніципальні стічні води), забезпечуючи додатковий ступінь біологічної очистки стічних вод;

- для вирощування мікробіодоростей можна використовувати пустельні і засолені землі, які не підходять для сільськогосподарського виробництва харчової продукції;

- виробництво є несезонним, і сировину можна отримувати партіями майже цілий рік;

- мікробіодорості культивують без використання добрив і пестицидів;

- мікробіодорості можуть бути сировиною для широкого спектру продуктів (наприклад, білки, полісахариди, пігменти, біополімери, корми,

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						14
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

добрива та ін.);

- організація виробництва біомаси мікроводоростей не вимагає складного обладнання та високого рівня автоматизації виробництва.

У Таблиці 1.2. показані переваги водоростей, як сировини для біопалива, перед іншими видами рослинної сировини (вихід олії з одного акра).

Таблиця 1.2. Вихід олії в дм^3 на м^2 при переробці різних олійних рослин.

[9]

№	Види рослин	Вихід олії, $\text{дм}^3/\text{м}^2$
1	зернові	0,017
2	бавовна	0,033
3	соя	0,045
4	ріпак	0,119
5	пальма	0,6
6	водорості	1,12-9,3

З біомаси (вирощеної тим чи іншим методом) водоростей шляхом хімічної і біохімічної переробки виробляють такі напівпродукти і біопаливо: тригліцериди, жирні кислоти, ліпіди, вуглеводні, вуглеводи (цукр, крохмаль, альгінат), етанол і інші спирти, целюлозу та інші цінні продукти .

Таблиця 1.3. Середня кількість отриманого біопалива ($\text{дм}^3/\text{м}^2 \cdot \text{рік}$) з рослинної сировини. [12]

Культура	Кількість отриманого біопалива, $\text{дм}^3/\text{м}^2 \cdot \text{рік}$
----------	---

Водорості	2,247
Пальма	7,31
Цукорова тростина	5,06
Соя	0,57

1.1.2. Обґрунтування вибору виду мікроводоростей для подальшого отримання біомаси.

Chlorella vulgaris широко поширена в прісних водах, на сирій землі, корі дерев і т.д. Це одноклітинна зелена водорість без джгутиків, війок і скорочувальних вакуолей має округлу форму і за розмірами менше хламідомонади. Клітини містять зазвичай чашоподібний хлоропласт з піреноїдом або без нього і одне дрібне ядро.

Єдиний спосіб розмноження - безстатевий, причому кожна гаплоїдна клітина мітотично ділиться двічі або тричі з утворенням відповідно чотирьох або восьми нащадків - автоспор, які ще всередині оболонки материнської клітини покриваються власними оболонками. Звільняються автоспори після розриву стінки материнської клітини [13]. В процесі розмноження *Chlorella vulgaris* за оптимальних умов та за короткий час можна отримати приріст біомаси в 200 разів більший, ніж у вищих рослин [14]. Застосування *Chlorella vulgaris* засноване на дуже високому вмісті біологічно цінних речовин. Суха біомаса *Chlorella vulgaris* містить більше 45% сирого протеїну, включаючи незамінні амінокислоти, 30-35% вуглеводів, 7-10% ліпідів. У складі зеленої клітини містяться незамінні амінокислоти: лізин ($\approx 10\%$), метіонін ($\approx 1\%$), триптофан ($\approx 2\%$), аргінін ($\approx 15\%$), гістидин ($\approx 3\%$), лейцин ($\approx 6\%$), ізолейцин ($\approx 3\%$), фенілаланін ($\approx 2\%$), треонін ($\approx 2\%$) валін ($\approx 5\%$), а також хлорофіл ($\approx 2\%$). На частку вітамінів в біомасі *Chlorella vulgaris* припадають вітаміни груп В, С, РР, Е, каротин. В

диких штамах в нативному вигляді містяться мікроелементи - йод, бром, кобальт, калій, фосфор, залізо, магній і тому подібні та антибіотики. Систематично *Chlorella vulgaris* відноситься: до відділу - зелені водорості (Chlorophyta), класу - зелені водорості (Chlorophyceae), порядок - хлорококові або протококові (Chlorococcophyceae, Protococcophyceae), сімейство - ооцистові (Oocystaceae), рід - хлорелла (*Chlorella*) .

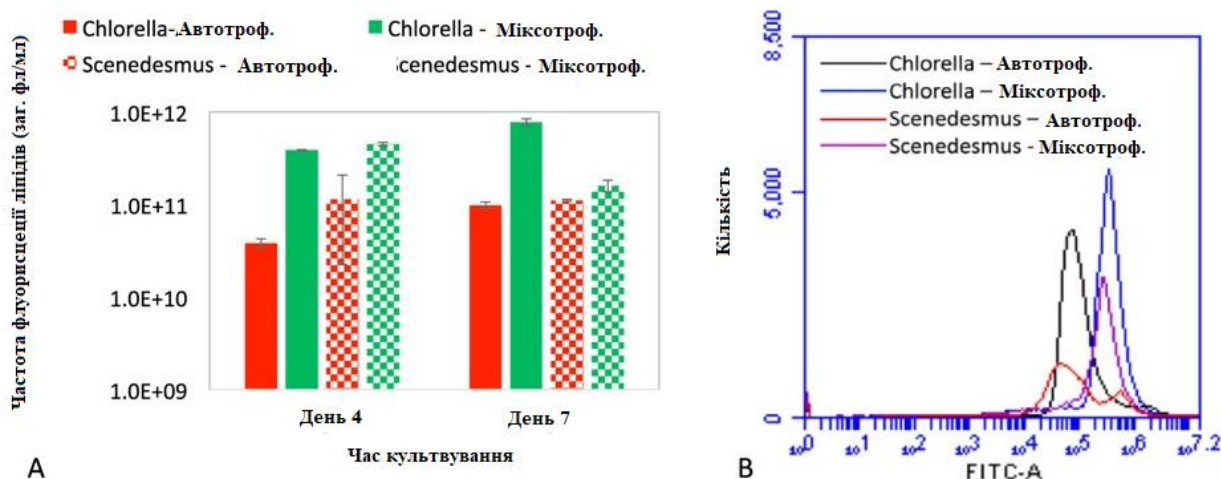
У Таблиці 1.4 для порівняння наведено вміст білків (сировина для продуктів харчування), вуглеводнів і ліпідів (два останніх - сировина для виробництва біопалива) в різних видах водоростей (% на сухий залишок).

Таблиця 1.4. Порівняльна характеристика вмісту запасних та поживних речовин у різних видів мікроводоростей (% на сухий залишок). [12]

№	Види водоростей	Білки	Вуглеводи	Ліпіди
1	<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9
2	<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
3	<i>Anabaena cylindrica</i>	45-56	25-30	4-7
4	<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20
5	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-18	21-52	16-40
6	<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6

7	<i>Tetraselmis maculata</i>	52	15	3
8	<i>Prymnesium parvum</i>	28-45	25-33	22-38

Chlorella Vulgaris та *Scenedesmus dimorphus* відрізняються високим ступенем використання світлової енергії (ККД фотосинтезуючої активної радіації 3,6%) і хімічним складом клітини за вмістом білків, незамінних амінокислот, вітамінів, набору мікроелементів, біологічно активних речовин, з якими не можуть зрівнятися не тільки водні, але і наземні



рослини.

Рис. 1.2. Ліпідна продуктивність водоростей *Chlorella* та *Scenedesmus* при різних умовах культивування (автотрофне та міксотрофне) Вісь X - час вибірки. Вісь Y - загальна частота флуоресценції ліпідів у логарифмічній шкалі. [15]

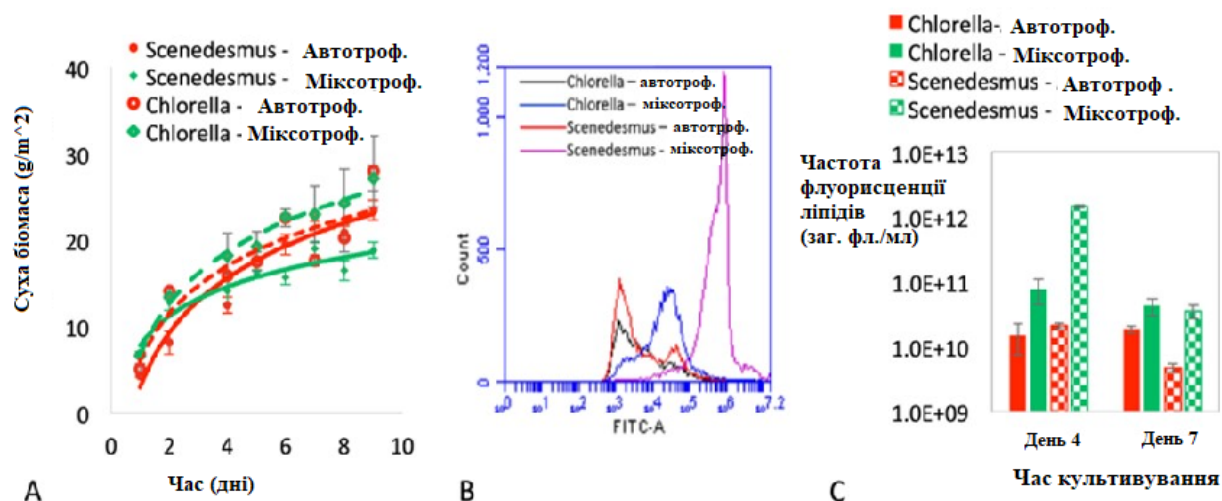


Рис.1.3. Продуктивність біомаси водоростей *Chlorella* та *Scenedesmus* при різних умовах культивування (автотрофне та міксотрофне). Вісь X (FITC-A) - інтенсивність флуоресценції ліпідів, з більш високим значенням, що вказує на більш високу концентрацію ліпідів. Вісь Y - кількість клітин водоростей з флуоресценцією ліпідів. [15]

Згідно Рис. 1.2. та Рис. 1.3., найбільш раціональним є вибір культивування саме *Chlorella vulgaris* для подальшого отримання біодизельного палива, через високі показники нарощування біомаси та накопичення ліпідів.

1.2. Біосинтез цільової речовини.

1.2.1. Характеристика ліпідів як цільового продукту в області енергетики

Ліпіди, або жири (від грецького *lipos* - жир) – це ряд органічних сполук, не розчинних у воді. Вони розчиняються в органічних розчинниках, таких як ефіри, хлороформ, бензол. До ліпідів належать також жиророзчинні вітаміни, простагландіни, пігменти та інші не розчині у воді сполуки.

Молекула ліпідів, як і вуглеводів складається з атомів карбону (С), гідрогену (Н), кисню (О). Але вміст кисню у відношенні до інших атомів значно менший, ніж у вуглеводах, що видно на прикладі тристеарину – $C_{57}H_{110}O_6$. Тому для окиснення ліпідів потрібно значно більша кількість кисню, ніж для окиснення вуглеводів.

Згідно [16], розділяють три великі групи ліпідів, що розрізняються за хімічною будовою:

- I. Прості ліпіди;
- II. Складні ліпіди;
- III. Оксиліпіни.

До групи I поряд з жирними кислотами входять сполуки, які містять один довгий вуглеводневий ланцюг з функціональною групою (карбоксильною). Ліпіди групи II побудовані з декількох блоків, з'єднаних між собою зв'язками, що розщеплюються при гідролізі, найчастіше складноефірних або амідних. У цих ліпідах можуть бути і прості ефірні зв'язки.

Складні ліпіди зазвичай ділять на дві підгрупи, які називають:

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						20
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

А - нейтральні ліпіди;

Б - полярні ліпіди.

Ліпіди групи ІІІ - оксипіпіні утворюються не з будь-яких жирних кислот, як ліпіди груп І і ІІ, а тільки з деяких полієнових, в першу чергу містять 20 вуглецевих атомів. Термін "оксипіпіні" запропонували в 1991 році шведські і американські вчені [17].

Ліпіди мікрободоростей можна розділити на дві групи за їх структурою:

- неполярні (ацилгліцероли, стероли, вільні жирні кислоти, віск і стерильні ефіри);
- полярні ліпіди (фосфогліцерида, глікозилгліцерида і сфінголіпіди).

На Рис.2.1 наведена структурна формула полярних ліпідів. [18]

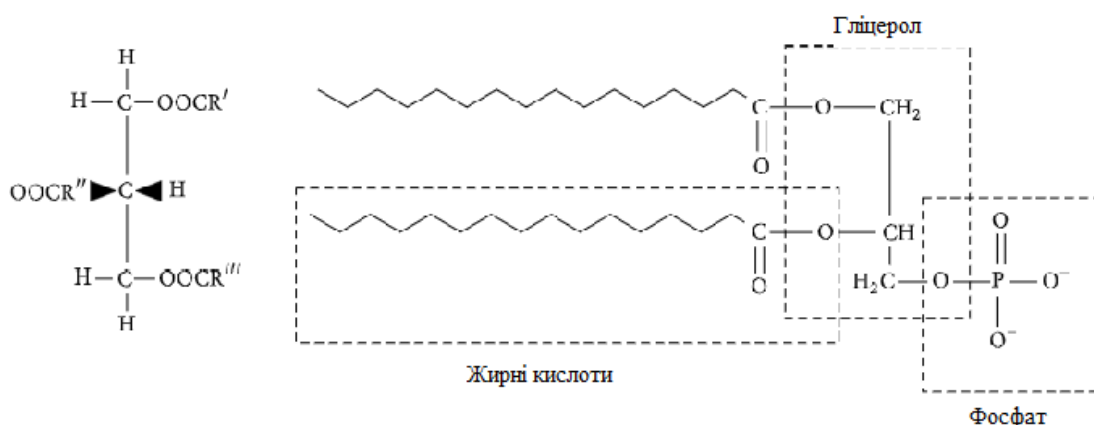


Рис.2.1. Молекули ліпідів. Ліворуч триацилгліцерол. Фосфоліпід (полярний ліпід) справа. R', R'' і R''' в молекулі триацилгліцерину являють

собою ланцюги жирних кислот. Молекула фосфоліпиду негативно заряджена.

Ці ліпіди відіграють різні, але важливі ролі в періоді метаболізму і росту мікроводоростей. Деякі ліпіди, такі як фосфогліцериди, глікозилгліцериди і стерини, є обов'язковими структурними компонентами біологічних мембран, тоді як ліпіди, такі як інозитоліпіди, сфінголіпіди та окислювальні продукти поліненасичених жирних кислот, можуть виступати в якості ключових проміжних сполук у сигнальних шляхах клітин і відіграють певну роль у визначенні змін у середовищі [19]. Кількість цих ліпідів мікроводоростей змінюється залежно від типу виду, умов росту та навколишнього середовища.

Повідомлялося, що вміст ліпідів коливався в межах 20–50% сухої біомаси, включаючи *Chlorella*, *Cryptocodinium*, *Cylindrotheca*, *Dunaliella*, *Isochrysis*, *Nannochloris*, *Nannochloropsis*, *Neochloris*, *Nitzschia*, *Phaeodactylum*, *Porphyridium*, *Schizochytrium* та *Tetraselmis*.

Характерним структурним компонентом більшості ліпідів є жирні кислоти, в яких акумулюються великі енергетичні запаси, які звільняються при окисненні. У вільному стані вони з'являються після ферментативного гідролізу тригліцеридів. Жирні кислоти – органічні кислоти з довгим вуглеводневим ланцюгом, який містить від 4 до 24 і більше атомів карбону і одну карбоксильну групу. Загальна формула жирних кислот - $C_nH_{2n+1}-COOH$. Для багатьох жирних кислот є характерною наявність парної кількості атомів карбону, що зумовлено специфікою їх синтезу. Жирні кислоти поділяються на насичені і ненасичені.

Дослідження [20] показали, що мікроводорості різних видів мають різний вміст жирних кислот, як і мікроводорості одного виду з різними умовами культивування. Було зазначено, що відмінності у вмісті жирних

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						22
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

кислот у мікроводоростях обумовлені відмінностями, що використовуються в початкових умовах і середовищі культивування.

Вміст насичених жирних кислот *C.vulgaris*, що культивується з використанням фотобіореактора і відкритого ставка, цілком достатньо високий у порівнянні з ненасиченими жирними кислотами, таким чином, має потенціал бути біодизелем. Згідно [21], високі рівні ненасичених жирних кислот не придатні для біопалива, тому що виробничий процес повинен забезпечувати баланс окислення жирних кислот. Виробництво біодизелю, що у своїх характеристиках містить високий рівень ненасичених жирних кислот є більш сприятливим до окислення, викликаючи нижчі результати в порівнянні з переважаючими насиченими жирними кислотами.

Аналіз жирних кислот фотобіореактора і відкритого ставка показав високий вміст пальмітинової, стеаринової і лінолевої кислот. Янг Ф.А.[22] стверджує, що високий вміст пальмітинової та олеїнової кислот, може сприяти утворенню біодизеля з кращою якістю.

Таблиця 2.1. Вміст жирних кислот у мікроводоростей Chlorella vulgaris, в залежності від техноогії культивування (закрита система у фотобіореакторі, відкрита система у ставку).

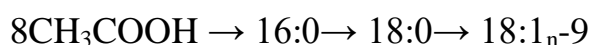
Жирні кислоти	Класифікація	Фотобіореактор	Відкрита система культивування
Лауринова	Насичена	0,7%	0,9%
Міристинова	Насичена	6,3%	6,1%
Пальмітинова	Насичена	22,8%	22,6%
Стеаринова	Насичена	21,6%	21,4%
Σ		51,4%	51%

Пальмітолеїнова	Ненасичена	10,2%	10,4%
Олеїнова	Ненасичена	6,9%	6,9%
Лінолева	Ненасичена	6,9%	6,6%
Ліноленова	Ненасичена	14,9%	14,3%
γ-ліноленова	Ненасичена	1,6%	1,8%
Арахідонова	Ненасичена	2%	2,3%
Σ		42,5%	42,3%

1.2.2. Біохімія синтезу ліпідів

Біосинтез жирних кислот.

Практично всі організми здатні синтезувати з ацетату пальмітинову кислоту і перетворювати її в стеаринову та олеїнову:



Перетворення жирних кислот відбувається під дією ферментів – елонгаз (подовжені ланцюги) та десатураз (введення подвійних зв'язків). У мікроводоростей олеїнова кислота може перетворюватися у полієнові кислоти з тією ж кількістю атомів вуглецю:

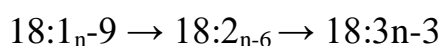
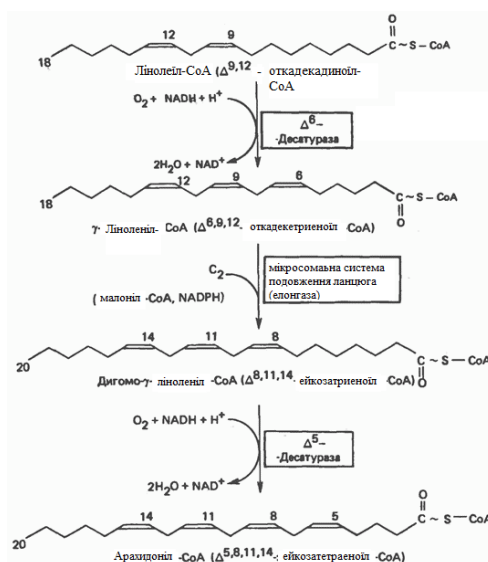
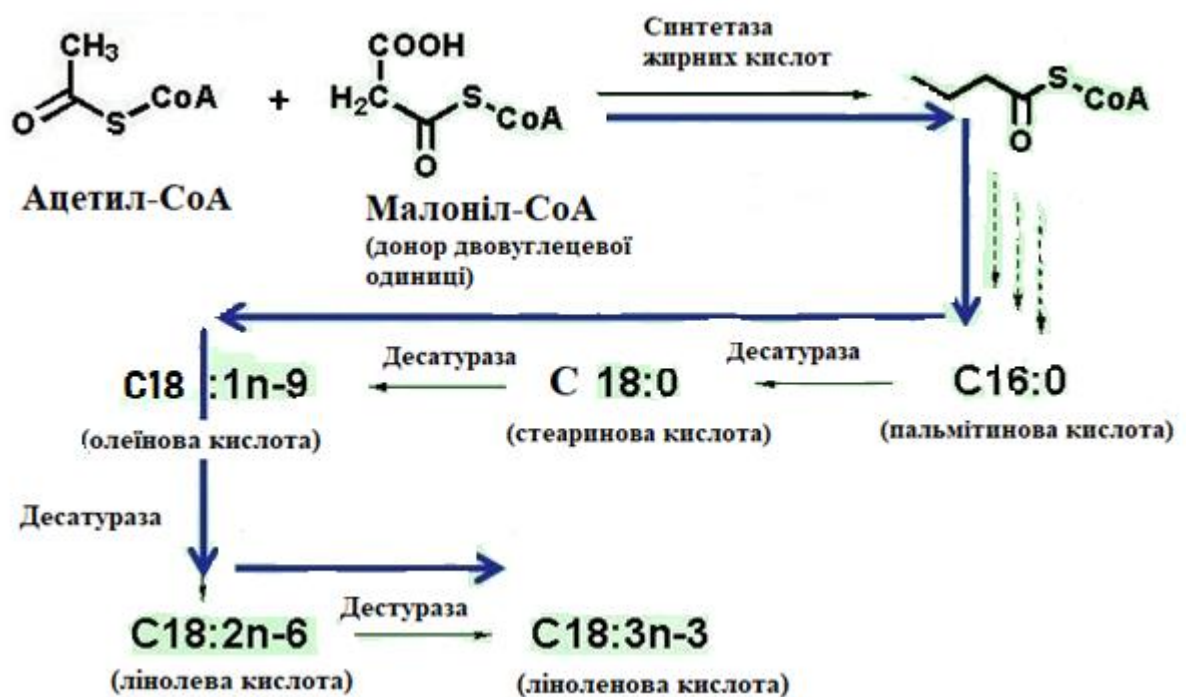


Рис 2.2. Шлях перетворення лінолеату в арахідонат.



На першому етапі перетворення відбувається дегідрування лінолеїл-CoA з утворенням -лінолената, який потім за участю мікросомальної системи подовження ланцюга взаємодіє з малоніл-CoA і подовжується на 2 атома вуглецю; в результаті утворюється ейкозатрієноат (дигомоуліноленат). Останній піддається дегідруванню до арахідонової кислоти.

Рис.2.3. Біосинтез жирних кислот мікроводоростей.



1.2.3. Технології вилучення ліпідів з мікроводорстей

Екстракція ліпідів з клітин мікроводорстей - це процес, який характеризується високими витратами енергії, що сильно ускладнює використання біомаси мікроводорстей як сировини для виробництва широкого спектру продуктів в промисловому масштабі [23]. Екстракцію ліпідів біомаси мікроводорстей можна розділити на:

- екстракцію з вологої біомаси (при якій виділення цільового продукту ускладнено наявністю культуральної рідини, що призводить до невисокого виходу продукту в процесі екстракції);

- екстракцію ліпідів з сухої біомаси мікроводоростей, недоліком якої є високі витрати енергії на сушку біомаси.

Метод екстракції з використанням суміші хлороформ/метанол (1/1 об./Об.) розроблений в 1951 році Фолчем та іншими і є швидким і ефективним [24]. Однак хлороформ має високу токсичність, і його використання є небажаним. З цієї причини його ефективність при екстракції ліпідів з біомаси мікроводоростей все ще потребує подальшої оцінки. Також використовується суміш з співвідношенням метанолу та хлороформу 2:1 (об./Об.) - метод Блая і Даєра. Як заміну хлороформу використовують діхлорметан в співвідношенні метанол-діхлорметан 1:2 (об./Об.) - метод Чена. Суміш розчинників з низькою токсичністю гексан/ізопропанол 3:2 (об./Об.) Запропонована в якості заміни суміші хлороформ / метанол. Після двухфазного поділу, легка органічна фаза (гексан з деякою кількістю ізопропанола) містить велику частину ліпідів (нейтральних і полярних), а нижня водна фаза (вода з деякою кількістю ізопропанола) містить білки і вуглеводи.

Чистий спирт (наприклад, бутанол, ізопропанол і етанол) є дешевим летючим екстрагентом і здатний утворювати водневі зв'язки з білково-ліпідними комплексами мембран через свою полярну природу. Але його полярна природа також є недоліком, оскільки обмежує взаємодію з автономними глобулами нейтральних ліпідів. З цієї причини, при його використанні в якості розчинника, при екстракції ліпідів мікроводоростей, алкоголь майже завжди використовують в поєднанні з неполярним органічним розчинником, таким як гексан або хлороформ, для забезпечення

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						26
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

загальної екстракції обох форм нейтральних ліпідів (як автономних кульок, так і як мембранно-асоційованих комплексів).

Екстракція по Сокслету - метод, який дозволяє повністю витягти всі ліпіди, які є в клітинах мікроводоростей, в результаті чого досягається 100% вилучення. Завдяки циркуляції розчинника в екстракторі за рахунок випаровування і конденсації, клітини біомаси взаємодіють зі свіжим органічним розчинником, завдяки чому підтримується найбільша рушійна сила, при цьому мінімізується витрата розчинника.

Лі та інші в своєму дослідженні [25] вивчали вплив попереднього руйнування клітин біомаси на ефективність процесу екстракції ліпідів мікроводорості *Chlorella vulgaris*. Використовували суміш хлороформ-метанол 1:1 (об./Об.) в якості екстракційного розчинника. Розглядалися такі методи руйнування клітин: автоклавування, гомогенізація, обробка СВЧ-випромінюванням, обробка ультразвуком, створення «осмотичного шоку». В результаті було встановлено, що СВЧ-випромінювання (2450 МГц протягом 5 хв) дозволяє витягти максимальну кількість ліпідів 10% (мас.).

В роботі [26] Ruckebusch E. та інші досліджували доцільність попереднього руйнування клітин біомаси наступними методами:

- 1) триразове заморожування/розморожування в рідкому азоті;
- 2) гомогенізація в середовищі етанолу за допомогою «кулькового млину» протягом 30 с при частоті 60 Гц;
- 3) обробка ультразвуком протягом 15 хв після перебування в середовищі метанолу, хлороформу і води.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						27
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

В якості екстрагентів використовували такі складові: хлороформ-метанол 1:1 (об / об); хлороформ-метанол 2:1 (об / об); діхлорметан-етанол 1:1 (об / об); гексан-ізопропанол 3: 2 (об / об); метил-трет-бутиловий ефір-метанол 10:3 (об / об).

Також перевірялося, чи дійсно ендogenousні ліпази викликають ліполіз і чи необхідна їх дезактивація до екстракції. Був досліджений ефект додавання ізопропанолу (для дезактивації ліпази) до *Chlorella vulgaris* на загальний вміст ліпідів і їх вигляд.

Суміш хлороформ-метанол із співвідношенням 1:1 (об. / Об.) дозволила витягти найбільшу кількість ліпідів - 22% (мас.), а з співвідношенням 2: 1 (об. / Об.) - 17% (мас.).

Було з'ясовано, що немає необхідності в дезактивації ендogenousних ліпаз. Це пояснюється тим, що ліпази вже частково дезактивовані при зневодненні під час ліофілізації. Для *Chlorella vulgaris* кількість екстрагованих ліпідів після руйнування клітинних стінок було в 1,1 рази вище в порівнянні з екстракцією з незруйнованих клітин біомаси. У дослідженні, проведеному Celine Dejoye Tanzi і іншими [27], в якості екстракційних розчинників використовувалися терпени - природні розчинники з унікальними технічними та хімічними властивостями. Вихід ліпідів, одержуваних з мікроводоростей при використанні двох різних розчинників, склав 0,88% і 0,91% для н-гексану і α -пинена відповідно.

Витягнута маса ліпідів була в 1,4 рази вище при використанні терпенів як екстрагентів у порівнянні з н-гексаном. Цей ефект вже відзначений в роботі Лю і інших [28] і може бути пов'язаний з більш полярною природою терпенів в порівнянні з н-гексаном. За результатами даного дослідження можна зробити висновок, що терпени можуть розглядатися в якості

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						28
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

альтернатив органічним розчинникам для вилучення ліпідів з біомаси мікроводоростей, так як кількісний і якісний склад жирних кислот практично не відрізнявся.

У дослідженні Glacio S. Araujo та інших [29] вивчені п'ять методів екстракції ліпідів з біомаси мікроводоростей *Chlorella vulgaris*: Блая і Даєра, Чена, Фолча, Хара і Радіна, і Сокслета. У всіх випадках клітинні стінки руйнувалися за допомогою обробки біомаси ультразвуком (40 кГц). Метод Блай-Дайєра з використанням ультразвуку для руйнування клітин дозволив отримати найбільшу (52,5% мас.) кількість ліпідів.

Важливими чинниками при екстракції ліпідів з біомаси мікроводрослей є співвідношення органічного розчинника (мл) і висушеної біомаси (г) мікроводоростей R . Відповідне значення R для кожного штаму мікроводоростей варіюється в залежності від вмісту ліпідів і внутрішньої взаємодії розчинника і клітини. Важливо знайти оптимальне значення R для конкретного штаму мікроводорості. При цьому виявлена наступна тенденція: при збільшенні співвідношення R спостерігається надмірне споживання органічного розчинника, в той час як його зниження призводить до підвищених енерговитрат при добуванні екстрагенту і неповної екстракції.

Температура екстракції також сильно впливає на вихід ліпідів. Збільшення температури від 30 до 60 °C призводить до підвищення швидкості екстракції ліпідів з тканин [29], однак зростання температури після 70 °C призводить до окислювальної деградації термолабільних компонентів, що призводить до зниження виходу ліпідів.

Brian McConnell та інші [30] досліджували можливість заміни гексану, як екстрагента, на гептан, який менш небезпечний, а також визначали кінетику процесу екстракції ліпідів гексаном і гептаном при різних R .

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						29
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Встановлено, що при $R = 5:1$ максимальний вихід ліпідів для гексана дорівнює 2,75% (мас.), для гептана - 1,8% (мас.). При $R = 30:1$ максимальний вихід ліпідів для гексана дорівнює 3,90% (мас.), а для гептана - 2,61% (мас.).

1.2.4. Обґрунтування вибору технології вилучення ліпідів для подальшої переробки у біодизель

Зроблено висновок, що для певного значення R екстракція гептаном є швидшою, але при екстракції гексаном досягається більший вихід ліпідів.

Проте гексан не цілком ефективний, оскільки погано проникає всередину клітини. Доводиться вводити додаткові стадії - обробку ультразвуком або механічну гомогенізацію, що руйнує оболонку клітин. Крім цього, екстракт неминуче буде містити побічні продукти - пігмент хлорофіл, білки, гідрофобні вуглеводи, а потрібні саме жирні кислоти. Оскільки це ще більше робить процес дорожчим, то було обрано пресування (механічний спосіб). Також даний метод екстракції ліпідів в Україні є найпоширенішим, що спрощує методи реалізації даної технології.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						30
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

1.3. Характеристика живильного середовища для подальшого культивування.

1.3.1. Характеристика живильних середовищ.

Мікробактерії вирощують у водних розчинах, які містять необхідні для росту компоненти. Живильне (або базове) середовище містить воду, набір мінеральних солей, фактори росту (наприклад, вітаміни) Існує кілька типів культуральних середовищ, які класифікують за різними ознаками.

Мінімальне середовище. Культуральне середовище, що містить мінімально необхідні компоненти для росту мікробактерій. Воно включає тільки неорганічні солі і воду.

Селективне середовище. Використовується для росту тільки певних відібраних організмів. Наприклад, якщо мікробактерії резистентні до певного антибіотика, то його можна додавати до середовища для пригнічення росту інших клітин, які не мають такої резистентності. Селективні ростові середовища використовуються також для забезпечення виживання і розмноження клітин з певними властивостями, такими як здатність до синтезу певних метаболітів.

Транспортне середовище. Використовується для тимчасового зберігання і транспортування мікробактерій для подальшого культивування. Транспортне середовище добре підтримує життєстійкість мікробактерій без зміни їх концентрацій. Таке середовище містить тільки буфери і солі. Відсутність азоту, фосфору та органічних факторів росту стримує ріст мікробактерій.

Збагачене середовище. Містить поживні елементи, які потрібні для росту цілого ряду мікробактерій, включаючи і такі, розвиток яких вимагає дотримання специфічних умов.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						31
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Запропоновано багато різних живильних середовищ для культивування мікроводоростей у лабораторних умовах. Більшість з них являють собою модифікацію раніше застосовуваних середовищ, але деякі складені на основі аналізу води з місць існування в природі певних видів, а також з урахуванням екологічних особливостей походження штаму. [31]

Розробляючи або модифікуючи живильне середовище, необхідно враховувати наступне:

- концентрацію і склад іонів таких макроелементів, як калій, магній, сірка, фосфор;

- джерела азоту. Як правило, це нітрати, амонійний азот та сечовина, причому вибір визначається видом водоростей та оптимальним значенням рН. Ріст суттєво залежить від наявності, або, вірніше, доступності азоту. Відомо, що більшість видів мікроводоростей містять 6-9% азоту в перерахунку на суху біомасу. Виходячи з цього, можна оцінити потребу водоростей в азоті. Зокрема, для утворення 1г біомаси в 1л культуральної суспензії потрібно 0,500,6 г KNO_3 л⁻¹.

- джерела вуглецю. Вуглець як правило, вводять у вигляді вуглекислого газу в суміші з повітрям або у вигляді бікарбонату. Треба відмітити, що вибір джерела вуглецю значною мірою залежить від рН, оптимального для росту організму;

- мікроелементи. Як правило, їх вносять у вигляді сумішей, враховуючи попередньо експериментально встановлену концентрацію кожного з мікроелементів для забезпечення активного росту водоростей. Для стабілізації суміші мікроелементів використовують комплексоутворюючі сполуки, наприклад ЕДТА;

- вітаміни, фактори росту. Для росту багатьох видів водоростей необхідні вітаміни, наприклад B_{12} (кобаламін).

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						32
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

У 1957 році була розроблена поживне середовище Таміія [32], яке широко використовується в даний час для культивування біомаси *Chlorella vulgaris*. Роботи по модифікації даного середовища проводилися В.Е.Семененко і Е.Д. Кузнецовим [31], які досліджували продуктивність культури *Chlorella vulgaris* на поживних середовищах Таміія і Таміія з сечовиною.

Встановлено, що основним недоліком середовища Таміія є завищені в кілька разів концентрації сірки і магнію. Тому була створена нове збалансоване живильне середовище № 3, приріст біомаси на якому був однаковий в порівнянні з середовищем Таміія з нітратним азотом, і нижчий на 1% в порівнянні з середовищем Таміія з сечовиною. У дослідженнях Музафарова [33] по культивування суспензії *Chlorella vulgaris* і використанні її в якості кормової добавки для великої рогатої худоби використовувалася спеціально розроблене середовище № 4 і модифіковане середовище №4, які дозволяли досягти урожайності 22-24,5 г/м² для середовища № 4 і 22,5-26 г/м² для модифікованого середовища № 4. Велике дослідження по мінеральному харчуванню мікроводоростей проводив В. В. Упітіс [31], який розробив збалансоване середовище А-5П.

На думку автора дане середовище може бути застосоване для культивування без регуляції рівня рН, при цьому додавання (в процесі виснаження) елементів проводиться шляхом внесення в суспензію розчину мінеральних солей з концентрацією в 100 разів більше початкової, ніж у вихідному середовищі. Воншак [34] запропонував середовище N-8, яке має широке застосування для масового культивування хлорели. Ramkumar K. Mandalam і інші [35] в 1998 році встановили, що середовище N-8 є дефіцитним по залізу, магнію, сірки і азоту при високій щільності клітин. Середовище N-8 було перероблено в середовище М-8; це дозволило в 3-5

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						33
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

разів збільшити загальний вміст хлорофілу на одиницю об'єму культури в порівнянні з N-8 середовищем.

Довгострокове культивування (24 дні) *Chlorella vulgaris* на M-8 середовищі показало безперервне збільшення вмісту хлорофілу і біомаси протягом всього періоду вирощування. При цьому збільшення вмісту хлорофілу і біомаси припинилося після 7 і 12 днів відповідно для середовища N-8, що продемонструвало перспективність середовища M-8 для промислового виробництва біомаси.

Таким чином, приріст клітин може бути значно підвищений при відповідному живильному середовищі. Також було встановлено, що базовий вміст елементів живильного середовища при культивуванні біомаси впливає на біохімічний склад клітин. Wijanarko A. [36] вивчав можливість культивування *Chlorella vulgaris* на середовищі Бенеке, в результаті було визначено, що живильне середовище Бенеке з розчиненим азотом у вигляді нітрату калію є найбільш оптимальним для накопичення ліпідів до 0,42 г/г біомаси. При наявності сечовини в якості джерела азоту спостерігалось зниження росту клітин на 30%, при цьому створювалися умови для виробництва білку до 0,54 г/г біомаси. З'ясовано, що використання стічних вод, що містять аміак, дозволяє збільшити на 55-60% швидкість росту хлорели і збільшити кількість внутрішньоклітинних ліпідів на 8,5%.

Хелд П. та інші [37] вивчали культивування штаму *Chlorella vulgaris* на поживних середовищах BG-11 TAP і TP. Приріст біомаси на середовищі TAP був в 1,7 рази вищим в порівнянні з середовищем TP і в 16 разів вище в порівнянні з середовищем BG-11 на шосту добу культивування [38].

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						34
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Живильні середовища, використовувані для культивування *Chlorella vulgaris*, містять макро- і мікроелементи, які забезпечують нормальну життєдіяльність клітин (Таблиця 3.1.).

Таблиця 3.1. Необхідні мікро- та макроелементи для нормальної життєдіяльності клітин мікрободоростей.

Елемент	Вплив та значення елементу
K	Впливає на водно-сольовий баланс клітин та осмотичний тиск.
Mg	Бере участь в аеробному розкладі вуглеводів та ліпідів, активує частину ферментів циклу Кребса, входить до складу хлорофілу.
S	Входить до складу цистеїну та метіоніну в реакціях енергетичного метаболізму.
P	Входить до складу клітинних мембран (фосфоліпіди), бере участь у синтезі білку, в збереженні та переносі енергії АТФ.
Mn	Необхідний для нормального перебігу фотосинтезу, так як входить у склад активного центру киснеутворювального комплексу фотосистеми II. Грає роль в підтримці структури хлоропластів. Активує більш ніж 35 ферментів, в тому числі ферментів-каталізаторів реакції циклу Кребса.
Zn	Бере участь в процесах дихання та білкового обміну.
B	Бере участь в обміні нуклеїнових кислот, викликає конкурентне інгібування деяких ферментів.

Для кожного елементу є діапазони концентрації, при виході за межі яких ріст клітин припиняється або настає їх загибель. Мікроводорості активно реагують на концентрацію біогенних елементів в суспензії, змінюючи біохімічний склад клітин, а вміст основних компонентів клітин (білки, вуглеводи, ліпіди) може змінюватися в широких межах.

- Нестача азоту викликає значне зменшення врожаю біомаси та вміст зольних речовин в ній. Різко збільшується середня суха вага клітини, а в органічній речовині зменшується вміст хлорофілу і білку, збільшується кількість вуглеводів і ліпідів.

- При нестачі сірки відбувається збільшення середнього розміру однієї клітини і руйнування хлорофілу. Відмінними рисами сірчаного голодування є деяке зменшення вмісту білка і різке збільшення вмісту ліпідів при постійному рівні вуглеводів.

- Нестача магнію, заліза і калію не викликає значних змін біохімічного складу клітин, за винятком помітного зменшення вмісту ліпідів при магнієвому голодуванні.

Фактори мінерального живлення можна розділити на дві основні групи:

До **першої** групи входять азот і сірка. Нестача цих елементів не викликає негайного придушення процесів асиміляції в клітинах водоростей, але уповільнює поділ і зупиняє розвиток. В результаті клітина накопичує органічні речовини і збільшує свою вагу. Оскільки при нестачі азоту відбувається повне пригнічення синтезу білка, то клітини накопичують безазотисті сполуки (вуглеводи і ліпіди). При сірчаному голодуванні синтез білку пригнічується в меншій мірі, а стимуляція утворення ліпідів в цьому випадку супроводжується деяким придушенням синтезу вуглеводів.

До **другої** групи елементів входить фосфор, магній, калій, залізо. Дефіцит цих елементів негативно впливає в першу чергу на процеси асиміляції, тоді як поділ клітин відбувається зазвичай нормально. Наслідком

цього є уповільнення темпів зростання і накопичення сухої речовини в клітинах: середній розмір і середня вага однієї клітини при цьому не збільшується або навіть зменшується в порівнянні з контролем.

Необхідно відзначити, що змінюючи склад живильного середовища, можна отримувати продукт бажаного складу з різним співвідношенням білків і жирів. Так, на середовищі багатим азотом, *Chlorella vulgaris* може накопичувати від 40 до 88% білків і 5% ліпідів, а при нестачі азоту і надлишку вуглецю в живильному середовищі, навпаки, - 88% ліпідів і 5% білків.

Вивченням впливу складу поживного середовища на біохімічні властивості клітин *Chlorella vulgaris* займалися П. Хелд [37], В. К. Аужанова [39] та ін.

Було встановлено, що особливо сильно на біохімічний склад клітин мікроводорості *Chlorella vulgaris* впливає дефіцит азотовмісних речовин, стимулюючи накопичення внутрішньоклітинних нейтральних ліпідів - триацилгліцеридів (ТАГ), як запасних поживних речовин. За різними даними [37;39] кількість ліпідів збільшується в 1,7-15 разів.

Glacio S. Araujo та інші [40] вивчали створення стресу при культивуванні *Chlorella vulgaris* за допомогою додавання в живильне середовище F/2 NaCl. В результаті було визначено, що вміст NaCl в культуральному середовищі має великий вплив на кількість виробленої біомаси і на кількість ліпідів, що добуваються з мікроводоростей. Експеримент показав, що збільшення вмісту NaCl в культуральному середовищі дозволяє значно (на 35,6%) збільшити концентрацію ліпідів в сухій біомасі.

Таблиця 3.2. Кількісний склад жирних кислот ліпідів Chlorella vulgaris в звичайних умовах росту та при азотному голодуванні. [40]

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						37
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Назва кислоти	Формула	Звичайна культура (вміст, % мас)	Азотне голодування (вміст, % мас)
Пальмітинова	16:0	23,5	18,0
9-гексадеценова	16:1	2,5	1,5
7,10-гексадекатрійнова	16:2	12,0	3,8
7,10,13-гексадекатрійнова	16:3	11,1	5,0
Стеаринова	18:0	0,6	3
Олеїнова	18:1	3,9	43,2
Лінолева	18:2	21,0	11,0
Ліноленова	18:3	24,2	13,7

З Таблиці 3.2. видно, що при стресовому культивуванні збільшення вмісту ліпідів відбулося за рахунок збільшення в 11 разів концентрації олеїнової кислоти. Фізіологічна роль процесу накопичення ліпідів при стресових умовах культивування мікробіодоростей була пояснена А. Е. Соловченко. В роботі [41] узагальнені та накопичені до цього часу експериментальні дані, що дозволяють виділити, принаймні, три аспекти адаптаційної функції ТАГ у мікробіодоростей:

1) Нейтральні ліпіди є джерелом довголанцюгових жирних кислот - будівельних блоків для мембран;

2) Біосинтез ТАГ забезпечує перешкоджання розвитку фотоокислювальних пошкоджень при стресах, що знижують здатність клітини утилізувати продукти фотосинтезу;

3) Відкладені у вигляді ліпідних глобул ТАГ утворюють депо для вторинних каротиноїдів у каротиногенних водоростей, що забезпечують захист від фотопошкоджень.

В роботі [42] встановлено, що після припинення стресових умов, біохімічний склад клітин відновлюється, при цьому додавання імідазолу в концентрації 0,5-2,5 ммоль впливає на утворення фотосинтезуючого апарату: пригнічується синтез білку, хлорофілу, поліненасичених і транс-3-гексадеценової кислот, однак відбувається синтез вуглеводів. Також імідазол перешкоджає витрачання накопичених жирних кислот. Отримані результати дозволяють також пояснити процес перебудови біохімічного складу клітин при стресовому культивуванні.

Згідно досліджень [43] було запропоновано доступний спосіб вирощування накопичувальної культури *C. Vulgaris* щільністю до 1 г сухої маси/л з використанням в якості культурального середовища кислотної витяжки золи урини з додаванням нативної урини, яка доповнює відсутні елементи: азот, магній та ін. Аналіз біохімічного складу дослідної накопичувальної культури *C.vulgaris* в порівнянні з контролем і безперервною культурою, а також з періодичними культурами ціанобактерій виявив деякі її переваги:

- Підвищений вміст вітаміну E,
- Підвищений вміст суми незамінних жирних кислот,
- Підвищений показник зольності, ліпідів.

Інші показники досліджуваної культури *C.vulgaris*, такі як вміст незамінних амінокислот, вітамінів B1, B2, каротину і каротиноїдів, мінеральний склад, можливо порівняти з контрольною культурою. З розглянутих джерел азоту у живленні хлорели, поряд з нативною уриною, є

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						39
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

перспективним додавання до водної витяжки золи урини сечовини. Причому перевагою в першому випадку була доступність і дешевизна добавки азоту з уриною, а в другому - був відсутній ризик мікробіологічного зараження та накопичення органічної речовини (Таблиця 3.3).

Таблиця 3.3. Мінеральний склад біомаси культури *Chlorella vulgaris* (% від сухої маси)

	Середовище Тамія	Кислотна витяжка золи урини ± 30 мл/ дм^3 урини
K	0,65 \pm 0,04	0,72 \pm 0,08
Na	0,16 \pm 0,03	0,76 \pm 0,12
Ca	0,04 \pm 0,01	0,16 \pm 0,08
Mg	1,20 \pm 0,11	1,0 \pm 0,07
P	2,10 \pm 0,15	2,0 \pm 0,54
S	0,51 \pm 0,02	0,52 \pm 0,08
N	5,4 \pm 0,52	4,9 \pm 0,83
Fe	0,18 \pm 0,03	0,56 \pm 0,04
Mn	0,08 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01
Cu	0,015 \pm 0,005	0,010 \pm 0,003
Zn	0,08 \pm 0,014	0,08 \pm 0,01

У Таблиці 3.4. наведено мінеральний склад стандартного середовища хлорели, нативної урини, водної та кислотної витяжок золи урини. Вміст K, P і S в урині людини було порівняно із середовищем Тамія, тобто цих елементів було достатньо для нормального росту культури хлорели. Відзначено надлишок вмісту в урині Na і Ca і дефіцит Mg, порівняно зі стандартним середовищем. Оскільки хлорелла здатна витримувати без уповільнення зростання до 30 г/дм³ NaCl, то даний надлишок Na у витяжці не впливав на зростання водорості, так само як і кальцій.

Приріст біомаси хлорели, вирощеної на кислотній витяжці золи урини, виявився в середньому на 40% нижче, ніж в контролі (Табл. 3.5.).

Таблиця 3.4. Склад живильних середовищ на основі мінеральної урини, використаних для вирощування *Chlorella vulgaris* (середнє \pm стандартна похибка, $n=3$; г/ дм³)

	К	Na	Ca	Mg	P	S	N	pH
Середовище Тамія	2,22	-	-	0,25	0,22	0,33	0,69	5,3
Водна витяжка золи урини	1,7 \pm 0,5	3,0 \pm 0,4	0,02 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01	0,24 \pm 0,10	0,35 \pm 0,12	0,02	10-11
Кислотна витяжка золи урини	1,7 \pm 0,3	3,1 \pm 0,3	0,04 \pm 0,02	0,03 \pm 0,01	0,27 \pm 0,06	0,36 \pm 0,04	0,43*	5,1
Кислотна витяжка золи ± 30 мл/л урини	1,8 \pm 0,3	3,3 \pm 0,4	0,05 \pm 0,01	0,06 \pm 0,02	0,29 \pm 0,4	0,38 \pm 0,03	0,61* *	5,4
Урина [34]	1,0-2,1	2,0-4,0	0,07-0,16	0,07-0,13	0,6-0,87	0,21-0,54	3,8-5,6	6-7

*0,61 г/л N з HNO₃ + 0,02 г/ дм³ N з золю;

** 0,43 г/л N початково у витяжці + 18г/л N з уриною

Таблиця 3.5. Середня біомаса культури *Chlorella vulgaris* (\pm стандартна похибка, $n=3$, г сухої маси/ дм³), що культивують на контрольних та дослідних середовищах з додаванням нативної урини або сечовини (на 12 добу культивування).

Середовище	Біомаса
------------	---------

Середовище Тамія (контроль)	0,95±0,06
Кислотна витяжка золи урини (дослідне середовище)	0,57±0,05
Дослідне середовище +20 мл/дм³ урини	0,92±0,15
Дослідне середовище +30 мл/дм³ урини	0,90±0,09
Дослідне середовище +40 мл/дм³ урини	0,95±0,07
Дослідне середовище +50 мл/дм ³ урини	0,98±0,08
Дослідне середовище + 100мг/дм ³ сечовини	0,92±0,07
Дослідне середовище +200 мг/дм ³ сечовини	0,90±0,06
Дослідне середовище +300 мг/дм ³ сечовини	0,94±0,05

Більш економічно і доцільно поповнювати живильний розчин азотом, магнієм та мікроелементами, введенням в кислотну витяжку від 20 до 40 мг/л нативної урини. Обсяг доданої урини залежав від кількісного вмісту в ній азоту, фосфору і магнію. Відомо, що вміст елементів в урині варіює в залежності від харчування, при цьому мінімальні і максимальні значення можуть відрізнятися більш ніж в 2 рази [44]. Якщо вміст мінеральних елементів в урині є високим, то досить додати 20 мл урини/ дм³, щоб забезпечити приріст біомаси, близький до контролю (Табл. 3.5). Але більш надійна була добавка 30 - 40 мл нативної урини на 1 дм³ кислотної витяжки. При цьому задовольнялася потреба у всіх відсутніх елементах.

1.3.2. Склад поживних середовищ.

Середовище BG-11 - *Cyanophyta* (мг/дм³):

NaNO₃ (для середовища без азоту, замінюють на NaCl (1021 мг/ дм³)) – 1500; MgSO₄·7H₂O – 75; CaCl₂·2H₂O – 36; лимонна кислота – 6; 2C₆H₅O₇Fe·C₆H₇O₇NH₄ – 6; Na₂-ЕДТА - 1; Na₂CO₃ – 20; мікроелементи – 1 мг/дм³.

Розчин мікроелементів (мг/ дм³): H₃BO₃ – 61; MnSO₄·H₂O – 169; ZnSO₄·7H₂O – 287; CuSO₄·5H₂O – 2,5; (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O – 12,5.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						42
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Середовище Фітцджеральда в модифікації А. Цендера і П. Горхема, *Anabaena*, *Microcystis*(мг/ дм³):

NaNO₃ - 496; K₂HPO₄ – 39; MgSO₄ · 7H₂O – 75; CaCl₂·2H₂O – 36; Na₂CO₃ – 20; Na₂SiO₃·9H₂O – 58; C₆H₅O₇Fe – 6; лимонна кислота -6; ЕДТА - 1; мікроелементи - 0,08 мл/ дм³.

Розчин мікроелементів (г/дм³): H₃BO₃ -3,1; MnSO₄·H₂O – 2,23; ZnSO₄·7H₂O – 0,287; (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O – 0,088; Co(NO₃)₂·6H₂O – 0,146; Na₂WO₄ – 0,033; KBr – 0,119; KI – 0,083; Cd(NO₃)₂·4H₂O – 0,154; NiSO₄·(NH₄)₂SO₄·6H₂O – 0,198; VOSO₄·3H₂O – 0,020; Al₂(SO₄)₃·K₂SO₄·24H₂O – 0,474; Cr(NO₃)₃·7,5H₂O – 0,037.

Середовище С. Заррука, *Spirulina*, *Oscillatoria*, (г/ дм³):

NaHCO₃ – 16,8; K₂HPO₄ – 0,5; NaNO₃ – 2,5; K₂SO₄ – 1,0; MgSO₄·7H₂O – 0,2; CaCl₂ – 0,04; FeSO₄·7H₂O – 0,01; ЕДТА – 0,08; мікроелементи – по 1 мл кожного розчину на 1 дм³.

Розчин мікроелементів 1 (г/ дм³): H₃BO₃ – 2,86; MnCl₂·4H₂O – 1,81; ZnSO₄·7H₂O – 0,22; CuSO₄·5H₂O – 0,08; MoO₃ – 0,015.

Розчин мікроелементів 2 (мг/ дм³): NH₄VO₃ – 23; K₂Cr₂(SO₄)₄·24H₂O – 96; NiSO₄·7H₂O – 47,85; Na₂WO₄·2H₂O – 17,94; Ti₂(SO₄)₃ – 40; Co(NO₃)₂·6H₂O – 44.

рН середовища =8,3-8,4.

Середовище №6 Б.В. Громова – *Chroococcophyceae*, *Hormogoniophyceae* (Cyanophyta), *Ankistrodesmus*, *Chlorella* (Chlorophyta) (г/дм³):

KNO₃ -1,0; K₂HPO₄ – 0,2; MgSO₄·7H₂O -0,2; CaCl₂ – 0,15; NaHCO₃ – 0,2; мікроелементи – 1 мл/ дм³.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						43
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Розчин мікроелементів (г/ дм³): ZnSO₄·7H₂O – 0,22; MnSO₄ – 1,81; CuSO₄·5H₂O – 0,079; NaBO₂·4H₂O – 2,63; (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O – 1,0; FeSO₄·7H₂O – 9,3; CaCl₂ -1,2; Co(NO₃)₂·6H₂O – 0,02; ЕДТА – 10,0.

Середовище Тамія модифіковане (з додаванням урини)– *Chlorella*
(г/ дм³):

KNO₃ – 7,5; MgSO₄·7H₂O – 3,75; KH₂PO₄ – 1,25; FeSO₄·7H₂O -0,003; ЕДТА – 0,185; Ca(NO₃)₂ – 0,15; мікроелементи – 1мл/ дм³.

Розчин мікроелементів (г/ дм³): H₃BO₃ – 2,86; MnCl₂·4H₂O – 1,81; ZnSO₄·7H₂O – 0,222; MoO₃ – 0,018; NH₄VO₃ – 0,023; NaWO₄·H₂O – 0,033.

+ нативна урина – 30 мл/ дм³.

1.3.3. Приготування живильних середовищ.

Головними факторами, які впливають на стабільність живильного середовища є природа його компонентів, здатність їх взаємодіяти один з одним, температура, рН, освітленість, забезпечення киснем. [45]

Якщо розглянути вплив деяких з цих факторів на неорганічні компоненти живильного середовища, то для запобігання випаданню осаду в живильному середовищі необхідно враховувати, що солі амонію слід автоклавувати при рН нижче за 7, в іншому випадку деяка частина азоту може втратитися внаслідок утворення аміаку. Основні втрати іонів магнію, калію, амонію, натрію та фосфату можуть відбуватися при осадженні солей, які важко розчиняються. Погано розчиняються змішані фосфорнокислі солі магнію та амонію, магнію та калію, магнію та натрію. У зв'язку з цим сіль магнію потрібно автоклавувати окремо від фосфатів. Розчинність сульфату кальцію складає приблизно 0,2%, а фосфорна сіль є дуже слабо розчинною. У середовищі, що не має агентів, які утворюють комплекси,

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						44
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

практично всі іони заліза можуть випасти в осад, якщо не проводити значного підкислення середовища. Фільтри Зейтця можуть адсорбувати іони заліза.

Природні середовища, як правило, містять амінокислоти та інші сполуки, що хелатують мікроелементи. Багато мінімальних середовищ не мають агентів, які утворюють комплекси, що призводить до осадження заліза та інших мікроелементів. Використовуються також суміші мікроелементів у вигляді сухих порошків.

Протягом кількох перших годин після приготування розчину осадження може і не відбуватися. [46]

У біотехнологічному виробництві всі операції з приготування живильного середовища відбуваються в спеціалізованому цеху, який обладнаний ємностями для зберігання рідких і твердих речовин, засобами їх транспортування, апаратами з перемішуючими пристроями для приготування розчинів або суспензій. При цьому хімічні солі, які є компонентами живильних сумішей зберігаються зазвичай у твердому стані. При запуску ферментера приготування їх розчинів із заданим співвідношенням компонентів проводиться за наступною схемою. Кожний компонент живильного середовища в необхідній кількості згідно з рецептурою зважують на технічних терезах і окремо розчиняють у воді в спеціальних ємностях, постійно перемішуючи за допомогою мішалок. Приготовані розчини мінеральних солей по черзі вносять у ферментер і ретельно перемішують. При безперервному культивуванні розчини солей вводять у ферментер роздільно по індивідуальних лініях.

Для забезпечення необхідного рівня вуглецевого живлення суспензію мікроводоростей постійно барботують повітрям з додаванням вуглекислоти крізь спеціальні пристрої.

При періодичній ферментації на початку процесу інокулянт мікроводоростей вноситься вже до готового живильного середовища, яке

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						45
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

містить усі компоненти. Джерела вуглецю вводять безпосередньо перед засівом або окремі компоненти середовища вводять по мірі споживання їх культурою, підтримуючи в ферментері деяку оптимальну їх концентрацію, яка на різних етапах ферментації може змінюватись. [47]

Найважливішим елементом приготування живильних середовищ є дотримання вимог асептики. Це, як правило, повна стерилізація всіх потоків, що подаються, і самого біореактора, або створення такого значення рН, яке забезпечує пригнічення сторонніх мікроорганізмів.

Для стерилізації газових потоків (у першу чергу повітря) використовують процес фільтрації крізь спеціальні волокнисті фільтри з послідовно розташованими фільтруючими елементами. Фільтруючий матеріал періодично стерилізують, подаючи гостру пару у відключений фільтр через задані проміжки часу. Рідинні потоки стерилізують різними методами, з яких практичний інтерес представляють термічний, радіаційний, фільтрація і частково хімічний.

Термічний – найпоширеніший, за температури порядку 120-150°C.

Радіаційний - стерилізація γ -випромінюванням застосовується рідко через складнощі в створенні і експлуатації потужних джерел цього випромінювання.

В окремих випадках застосовують *хімічні* стерилізуючі агенти (речовини з яскраво вираженою асептичною дією). Основною проблемою в цьому випадку є необхідність усунення стерилізуючого агента з живильного середовища після загибелі мікрофлори до внесення інокуляту. Хімічні антисептики повинні бути не тільки високоефективними, але й легко руйнуватись при зміні умов по завершенні стерилізації. До кращих з них належить пропіолактон, який виявляє сильну бактерицидну дію і легко гідролізується, утворюючи молочну кислоту.

Мало поширеним є метод *фільтрації*, що пояснюється апаратними труднощами. Метод заснований на здатності напівпроникних мембран з

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						46
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

крупними порами пропускати рідку фазу і концентрувати клітини мікроорганізмів. Даний метод є раціональним для стерилізації термічно нестійких рідких і газових засобів, оскільки може здійснюватися за низьких температур і вимагає лише градієнта тиску з різних боків мембрани. Основна складність цього методу - наявність термостійких мембран, здатних витримувати багаторазову стерилізацію їх самих. На сьогоднішній день ця проблема вирішується шляхом застосування термостійких полімерів при виробництві мембран.[48]

1.3.4. Обґрунтування вибору складу поживного середовища для подальшого культивування

Було зроблено висновок, що основними лімітуючими елементами у середовищі були азот та магній. Додатково додавати азот у вигляді азотної кислоти у витяжку не представлялося можливим, оскільки рН середовища набувало значення менше 5, що пагубно діє на зростання водоростей. Отже, потрібні добавки азоту з інших джерел, переважно з нативної урини або сечовини, що входить до її складу. Добавки $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ в кислотну витяжку в кількості 100, 200 і 300 мг/дм³ збільшували продуктивність в середньому на одну і ту ж величину, рівну приросту біомаси в контрольному варіанті. Отже, при щільності хлорели близько 1 г сухої маси/дм³ достатньо додавати до кислотної витяжки 100-200 мг/дм³ сечовини, щоб задовольнити потребу хлорели в азоті. Корекція середовища магнієм у вигляді MgCO_3 , MgCl_2 , MgSO_4 в концентраціях 0,5 г/дм³ не давала стійкого позитивного результату.

Тому, за даними показників, було обрано поживне середовище Тамія, модифіковане 30 мл/дм³ нативною уриною, для збільшення вмісту азоту, необхідного для кращого накопичення біомаси обраного виду мікроводоростей.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						47
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

1.4. Характеристика технологій культивування

1.4.1. Характеристика технологій культивування

мікроводоростей.

Існує велика кількість потенційних технологічних шляхів для перетворення біомаси мікроводоростей у паливо. Вони можуть бути розділені на наступні три основні категорії:

1) Використання трансформації екстрактів мікроводоростей (наприклад, ліпідів, вуглеводів) в біопаливо (наприклад, біодизель, біоетанол);

2) Перетворення цілої біомаси в біопаливо (біонафта);

3) Використання водорості для виробництва молекул палива (наприклад, етанол, водень, метан, алкани) в результаті їх життєдіяльності.

Однак використання мікроводоростей для виробництва біопалива має ряд обмежень, пов'язаних зі збором врожаю біомаси, сушінням і видобутком олії, що знижує їх привабливість для використання в промисловому виробництві.

На Рис.4.1. зображено принципову схему отримання біодизелю з мікроводоростей, згідно якої технологічні процеси можна поділити на:

- Культивування
- Зневоднення
- Дезінтеграція клітинних стінок
- Екстракція
- Відгонка екстрагенту та виділення клітинних залишків
- Фракціонування ліпідів
- Трансетерифікація ліпідів
- Очистка ліпідів
- Змішення метилових ефірів
- Отримання готового продукту

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						48
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Серед усіх процесів, найвпливовішим та важливішим є саме процес культивування, від вибору виду технології якого залежить кількість отриманої біомаси із вмістом ліпідів, що в подальшому будуть використовуватися для отримання цільового продукту.



Рис 4.1. Принципова технологічна схема отримання біодизелю з мікроводоростей.

Культивування

Для забезпечення нормальних умов життєдіяльності мікроводоростей *Chlorella vulgaris* в процесі культивування біомаси клітин необхідна підтримка наступних умов:

- оптимальна концентрація мікро- та макроелементів;
- рівень освітленості;
- рівень рН;
- температура;
- концентрація CO₂.

Стадія культивування включає в себе такі стадії як: накопичення біомаси в оптимальних умовах зростання до досягнення стаціонарної стадії зростання, створення стресових умов, шляхом дефіциту азотовмісних речовин для стимулювання накопичення внутрішньоклітинних нейтральних ліпідів.

Культивування мікроводоростей у відкритих системах

Екстенсивне культивування мікроводоростей у відкритих водоймах ведеться в основному для отримання біомаси, а також для очищення стічних вод. Для отримання біомаси використовують прості й недорогі пристрої.

Найбільш розповсюджені це круглі, овальні або прямокутні басейни невеликої глибини, рідше - цементовані або вистелені плівкою траншеї, різної форми лотки або цистерни. Таке культивування мікроводоростей зазвичай проводять на територіях, де мало хмарних і дощових днів, невеликі добові перепади температур - в тропіках і субтропіках, тому даний вид культивування не є рентабельним для України, проте у деяких випадках в холодну пору застосовують штучний підігрів.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						50
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Відкриті установки у вигляді круглих басейнів діаметром до 25 м, глибиною 0,2 м експлуатуються в Японії.

Суспензія водоростей циркулює в басейні за допомогою насоса. Лопатки сегнерового колеса мають отвори, і повітря з вуглекислотою барботують через ці отвори. Лопатки приводяться в обертання реактивним рухом і перемішують зважені водорості. Чотири установки зазвичай з'єднують в батарею. Після вивантаження, суспензію водоростей центрифугують і сушать в розпилювальній сушарці при температурі 100 ° С.

На таких установках в Японії культивують зелені мікрowodорості роду *Chlorella* для виробництва концентрату, який застосовується для заміни рибного і соєвого борошна в тваринництві.

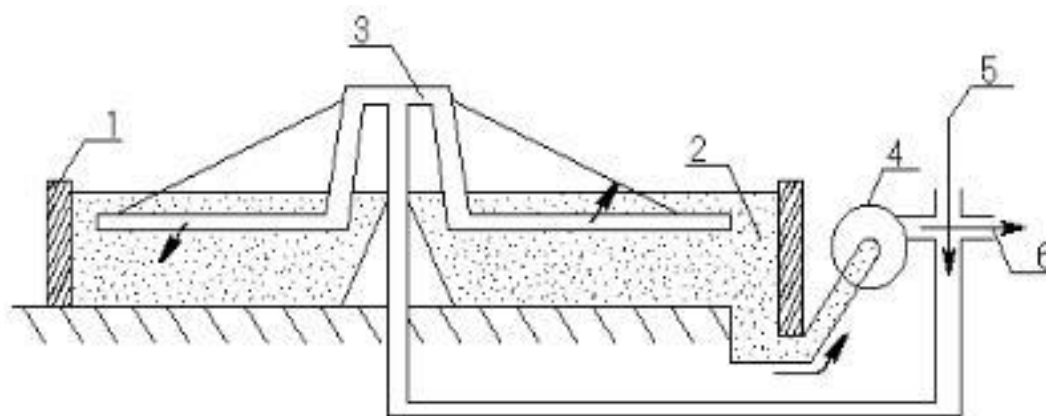


Рис 4.2. Схема відкритої установки для культивування мікрowodоростей:

1 - резервуар; 2 – водорослева суспензія; 3 - сегнерове колесо; 4 - насос; 5 - впуск суміші повітря з вуглекислим газом; 6 - вивантаження суспензії

В Узбекистані в установках відкритого типу культивують хлорелу, урожай якої становить 30-60 т сухої речовини з гектара в рік. Лімітуючим

фактором культивування там є порівняно низька зимова температура (2-5°C).

У Тржебоні (Чехія) діє установка каскадного типу (Рис. 5) для культивування зеленої водорості *сценедесмус*.

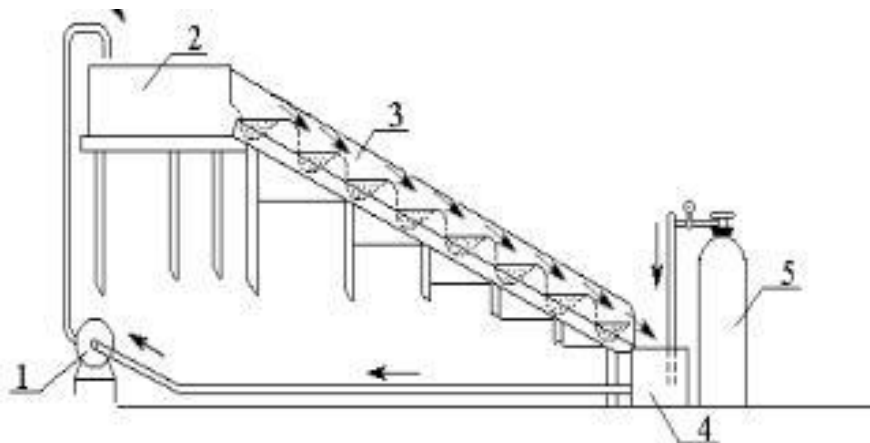


Рис.4.3. Схема відкритої установки каскадного типу:

1 - насос; 2, 4 - резервуар з суспензією водоростей; 3 - жолоби; 5 - балон з вуглекислотою

Установка складається з панелей змінної площі, зібраних з пластикових жолобів. Перетин жолобів впливає на осідання водоростей на дні жолоба. Панелі захищені прозорим покриттям, що дозволяє зберігати тепло при зменшенні освітленості. Панелі можна орієнтувати на сонці. Стаціонарні панелі встановлені на дахах будівель, споруд.

У Болгарії подібна установка розміщена на поверхні ґрунту. При будівництві були враховані можливості використання місцевих природних ресурсів, що забезпечують поряд з хорошою інсоляцією застосування природних джерел вуглекислоти і регулювання температури за рахунок води гарячих джерел.

Недоліки відкритих систем культивування:

- залежність від сезонів року (виключається цілорічне культивування мікроводоростей);
- неможливість підтримки температури на певному рівні (різкі добові коливання є неприпустимими);
- необхідність контролю над вмістом вуглекислого газу і умов освітленості;
- випаровування води з поверхні;
- можливість зараження культивованого штаму іншими мікроорганізмами.

Культивування мікроводоростей в закритих системах.

Умови культивування мікроводоростей можна поліпшити шляхом використання закритих установок з природним освітленням. В цьому випадку мікроводорості вирощують в прозорих трубках або спеціально сконструйованих культиваторах, в яких передбачено підтримку оптимальних умов культивування. Установки закритого типу дозволяють в 1,5-2 рази збільшити врожайність біомаси з одиниці об'єму середовища і знизити собівартість біомаси, що є досить впливовим чинником для можливих розробок в Україні.

Для підвищення швидкості росту біомаси в закритих установках через середовище впускають повітря, збагачене діоксидом вуглецю (CO₂). Газову суміш вводять в культуру за допомогою компресора через перфоровані трубки або з потоком суспензії клітин через відцентровий насос.

При масовому культивуванні в закритих системах використовуються або звичайні мінеральні поживні середовища, або спеціально збалансовані, що враховують витрачання основних компонентів в процесі росту біомаси.

Іноді з метою зниження вартості одержуваної біомаси для приготування поживних середовищ застосовують мінеральні добрива або природну мінеральну воду. Можливо ведення процесу в міксотрофних умовах при додаванні до мінерального середовища органічних речовин. Це

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						53
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

дозволяє отримати велику біомасу при відносно низькій інтенсивності світла. Економічно вигідним виявилось використання стічних вод деяких виробництв, зокрема цукрових і гідролізних заводів.

У Південній Італії побудована фабрика, де вирощується спіруліна на площі 2 га в закритій системі - трубчатом реакторі (Рис.4.4). Труби одночасно служать сонячним колектором і тим самим дозволяють продовжити продуктивний сезон. Експерименти у Флоренції показали, що якщо розмноження спіруліни в ставках, озерах триває з липня по вересень, в трубах реактора воно починається в квітні і закінчується в середині жовтня. При цьому урожай біомаси спіруліни в 10 разів перевищував урожай пшениці, а вихід білку був у 10 разів вище, ніж у соєвих бобів.

Реактор складається з 50-метрової прозорої скляної трубки діаметром 1см. Культура мікроводорості піддається повторній переробці під дією насоса. Спільнота створена одним видом водорістю і трьома бактеріями; є стійким до зараження.

До складу середовища входить аміак, мінеральні солі, вуглекислота. У процесі культивування виділяється чистий кисень. В отриманій біомасі міститься до 50% білка, ліпіди, крохмаль, гліцерин.

Такий реактор називають фотореактором, так як він дозволяє вирішити задачу контролю росту біомаси за рахунок використання сонячної енергії та вуглекислоти, тобто приріст біомаси мікроводорості відбувається за рахунок фотосинтезу.

В даний час розроблені установки і апарати інтенсивного керованого культивування фотосинтезуючих мікроводоростей в повністю контрольованих умовах з автоматичною стабілізацією оптимальних умов і безперервною автоматичною реєстрацією фізіологічних функцій культури: швидкості росту, інтенсивності фотосинтезу та ін.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						54
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

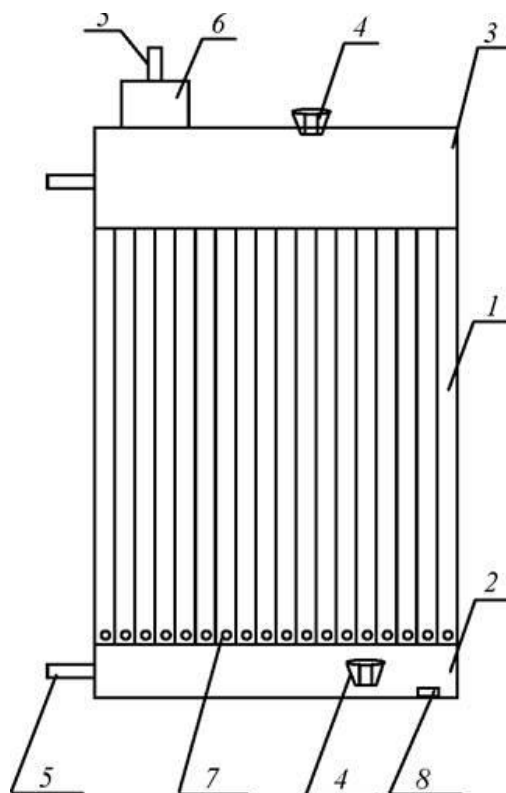


Рис.4.4. Схема трубчастої закритої установки для культивування мікроводоростей. 1 - панель; 2, 3 - ємності; 4 - порти для приладів; 5 - штуцери; 6 - пристрій механічного піногасіння; 7 - канали; 8 - магніт для очищення стінок.

В залежності від конструкції установок ведуть періодичне, проточне або комбіноване вирощування біомаси; процес може бути одно- або багатоступеневим.

Для культивування використовують високопродуктивні штами мікроводоростей, отримані в результаті селекції або під дією мутагенів. Найчастіше в якості продуцентів використовують термофіли - світлолюбні форми, що зберігають високу швидкість росту в щільних популяціях.

При інтенсивному культивуванні мікроводоростей продуктивність досягає 80-100 г сухої біомаси з 1 м² поверхні, що освітлюється на добу. Максимальна продуктивність культури є головною перевагою цього

методу. Однак у зв'язку з великими витратами електроенергії вартість продукції є високою. З цієї причини інтенсивне культивування не використовується для виробництва білку одноклітинних організмів в промислових масштабах, проте є перспективним та рентабельним у випадку збору ліпідів для подальшого отримання біопалива.

Культуру мікроводоростей або мікроорганізмів називають *періодичною*, або *накопичувальною*, якщо після початку її росту не додаються поживні речовини і не видаляється біомаса або кінцеві продукти обміну. Періодична культура, що містить обмежену початкову кількість поживних компонентів - є закритою системою. Гомогенну періодичну культуру, яка добре перемішується і в середовищі відсутні градієнти концентрацій називають простою гомогенною періодичною культурою [49]. До найбільш уживаних і інформативних кількісних характеристик росту періодичної культури відносяться питома швидкість росту (μ) час подвоєння біомаси (t_d), константа швидкості ділення (p), час генерації (g), тривалість лаг-фази, економічний коефіцієнт, максимум біомаси (вихід біомаси).

1.4.2. Обґрунтування вибору технології культивування

Періодичний режим культивування потребує менше реагентів, є технологічно простішим і дозволяє дослідити, наприклад, особливості споживання поживних речовин мікроорганізмами під час росту культури. В періодичному режимі розвиток культури мікроорганізмів супроводжується певною послідовністю фаз розвитку. Такі системи є не дуже зручними для промислового використання, але, натомість дуже показовими при проведенні лабораторних досліджень. Це пов'язано з тим, що періодичний режим культивування потребує менше реагентів, є технологічно простішим і дозволяє дослідити, наприклад, особливості споживання поживних речовин мікроорганізмами під час росту культури. В періодичному режимі розвиток культури мікроорганізмів супроводжується певною послідовністю

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						56
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

фаз розвитку. Тривалість фаз зумовлюється компонентним складом середовища, кількістю та станом посівного матеріалу, умовами культивування

Недоліками періодичного культивування є зміна складу розчину з часом, тобто зменшується кількість поживних компонентів і збільшується кількість метаболітів.

Найбільш досконалим вважається проточне вирощування мікроводоростей, при якому за сигналами, що надходять від самої культури, здійснюється автоматичний відбір приросту клітин, подача свіжого живильного середовища і стабілізація оптичної щільності культури, що використовується при закритій безперевній системі культивування.

У системах з безперевним культивуванням постійно відбувається подача свіжого поживного середовища і вилучення частини розчину, який міститься в реакторі. Функціонування цих систем, залежно від того чи переміщується свіже середовище з культуральною рідиною, яка вже є в реакторі, чи витісняє його, відбувається за принципом повного змішування або повного витіснення відповідно. Таким чином, в системах з безперевним культивуванням склад розчину в реакторі підтримується сталим. Системи проточного типу зазвичай працюють за принципом хемостата або турбідостата.

У випадку хемостата у реакторі підтримують сталим певний параметр (рН, концентрація поживних речовин і т. д.), у разі турбідостатного культивування важливим є підтримання сталості концентрації клітин мікроорганізмів.

В проточному (безперевному) культивуванні не відбувається виснаження поживного середовища, що має переваги над системою періодичного культивування. Крім того, важливим є не лише подача нових поживних речовин, а і відбір метаболітів, оскільки вони можуть пригнічувати ріст і процеси метаболізму мікроорганізмів. Системи з

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						57
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

безперервним культивуванням є досить поширеними і зручними, оскільки саме такий режим культивування дозволяє підтримувати продуктивність системи на сталому рівні. Для масштабного використання саме такий режим культивування є технологічно простим і ефективним, тому і був обраний у даній роботі

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						58
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

1.5. Характеристика обладнання

1.5.2. Характеристика фотобіореакторів

Нарощування біомаси в біотехнологічних виробництвах відбувається в спеціальних ємностях, так званих ферментерах або біореакторах, конструкція яких забезпечує дотримання оптимального температурного режиму, введення і відведення газових і рідких потоків, контроль за складом живильного середовища та умовами всередині реактора. У промисловій біотехнології виділяють два типи процесів - накопичення біомаси і накопичення цінних речовин, які виникають у ході початкового і подальшого розвитку культури. У залежності від цього біомаса одноклітинних організмів вирощується або безперервним способом в апаратах хемостатного типу, або періодично, коли в одному і тому ж апараті у виробничому циклі протікають усі необхідні фази розвитку клітин і процеси біосинтезу.

Існують технології вирощування водоростей у малих біореакторах, розташованих поблизу електростанцій. Тепло, яке вивільнюють ТЕЦ здатне покрити до 77% потреб у ньому для вирощування водоростей.

Терміном «фотобіореактор» позначають апарати, в яких здійснюють культивування фотосинтезуючих мікроорганізмів.

Фотобіореактори закритого типу були створені на противагу відкритим ємностям або ставкам, в яких переважно культивують мікрководорості в промислових умовах, часто навіть без додаткової аерації і перемішування. За даних умов, вихід цільового продукту в декілька разів нижчий, ніж при інтенсивному культивуванні в контрольованих умовах фотобіореактора. [50]

Фотобіореактори працюють:

- у режимі накопичення (один виробничий цикл);
- у режимі накопичення з підживленням;
- у режимі неперервного культивування.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						59
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Найчастіше неперервне культивування мікроводоростей проводять у турбідостаті-фотобіореакторі, де підтримується задана густина суспензії мікроводоростей за рахунок періодичного видалення мікроводоростей і додавання живильного розчину.

Конструктивно біореактори є досить складними інженерними системами. Забезпечення оптимальних умов для росту мікроводоростей вимагає постійного контролю і підтримання на певному рівні цілого ряду параметрів і умов асептики, температурного режиму, рН, окисно-відновного потенціалу середовища, концентрації розчиненого кисню, забезпеченості вуглекислотою та основними поживними речовинами, швидкості руху рідини, інтенсивності перемішування. Принципові риси конструкцій і режими культивування були напрацьовані при розробках лабораторних реакторів і промислових ферментерів, вимоги до яких здебільшого співпадають з вимогами до фотобіореакторів, але основна увага при конструюванні фотобіореакторів приділялася забезпеченню культур світлом, що накладає принципові обмеження на їх конструкцію.

1) Бульбашкові та газліфтні фотобіореактори

За способом перемішування водного середовища біореактора газом, що надходить, виділяють бульбашкові і газліфтні (аерліфтні) фотобіореактори. Від ефективності перемішування залежить величина періоду циркуляції рідини в об'ємі реактора, яка визначається як середня тривалість циклів світло-темрява для кожної клітини. Для бульбашкових реакторів ця величина складає 1-4, а для аерліфтних – 10-100. [51]

Оскільки барботування повітряно-газовою сумішшю поряд з перемішуванням повинно забезпечити підживлення культури вуглекислотою, для підвищення поверхні бульбашок їх розмір повинен бути досить малим. Для цього газ пропускають крізь перфоровані пластини, кільця, трубки, спеціальні наконечники з насадками. При цьому слід підбирати діаметр отвору і відстань між отворами таким чином, аби об'єм

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						60
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

бульбашок, які утворюються при виході газу, зберігався, і вони не зливалися у великі бульбашки. Інакше поверхня розділу між газової фазою і рідиною не буде достатньою для забезпечення ефективної дифузії вуглекислоти в розчин. Бульбашкові колони широко використовуються в біотехнологічній промисловості завдяки ряду переваг серед яких можна відмітити високі швидкості тепло- і масопередачі, відсутність рухомих частин, конструктивну простоту, низькі витрати на обслуговування і підтримання. [52]

В аерліфтних конструкціях газ подається в нижню частину колоноподібного резервуару, обладнаного тяговою трубою (ліфтом - внутрішньою трубою) або іншим пристроєм (зовнішньою тяговою трубою). При цьому об'єм біореактора розподіляється на зону, де є газ, і на зону, вільну від газу, у результаті чого створюється вертикальний циркуляційний потік суспензії (Рис. 5.1.)

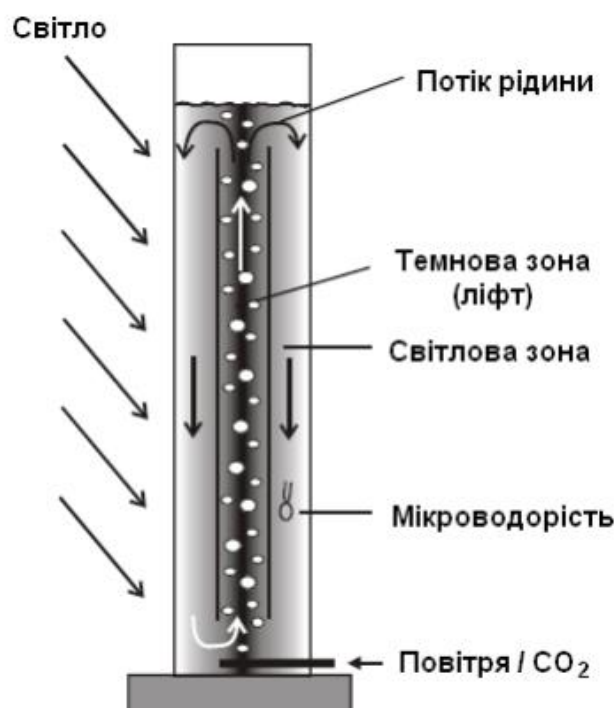


Рис. 5.1. Аерліфтний реактор

У бульбашкових реакторів, на відміну від аерліфтних, відсутня тягова труба, що знижує ефективність перемішування.

2) Плоскопаралельні фотобіореактори.

Останнім часом зросла актуальність комерційних фотобіореакторів, створених саме для промислового вирощування мікроводоростей. Вони побудовані з використанням розроблених раніше принципів і конструктивно відносяться до одного з трьох типів. Це фотобіореактори у вигляді плоскопаралельних кювет, трубчасті реактори, фотобіореактори на основі коаксіальних циліндрів, у яких культура знаходиться в кільцевому проміжку між двома співвісно встановленими прозорими циліндрами.

Найпростішими конструкціями є плоскопаралельні фотобіореактори. У реакторах цього типу культура мікроводоростей знаходиться всередині прозорої кювети невеликої товщини (від 0,1 до 2 см), яка освітлюється зовнішнім джерелом і перемішується газовою сумішшю, що подається знизу. Така проста конструкція дозволяє загалом задовільно вирішити питання рівномірного освітлення, яке насичує фотосинтез. Джерело освітлення може бути встановлене як з одного, так і з двох боків кювети. У разі двобічного освітлення продуктивність культури зростає вдвічі. Кількість світла, що подається на одиницю об'єму залежить від товщини кювети. Проте при використанні природного освітлення для кожної культури існує оптимальна товщина, обумовлена компромісом між пригніченням глибинних шарів через нестачу світла і інгібуванням поверхневого шару культур світлом надмірної інтенсивності. Цей реактор, незважаючи на простоту, є особливо корисним при вивченні фізіологічних особливостей одноклітинних мікроводоростей, ціанобактерій і пурпурних бактерій і дозволив визначити основні енергетичні характеристики росту фототрофних мікроорганізмів.

На жаль, ця конструкція реактора має ряд недоліків. Газомасообмін у ньому зростає зі збільшенням швидкості подачі газової суміші тільки до

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						62
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

певної межі. При дуже високій швидкості її подачі в об'ємі утворюються великі порожнини і газ виходить практично без перемішування з культуральною суспензією. Для пригнічення піноутворення доводиться встановлювати зовнішній механічний піногасник, в якому скупчується значна кількість культури, яка не отримує світла і не бере участь у фотосинтезі. При великій витраті газу проблемною є підтримка постійного об'єму суспензії, що, в свою чергу, ускладнює процес безперервного культивування. Зовнішнє джерело світла робить фотобіореактор громіздким, причому навіть при лабораторних розмірах (до 1 м²), вдається досягти рівномірного освітлення культури. Крім того, він виявився придатним не для всіх типів мікроводоростей, а для таких, які схильні до утворення осаду або створюють плівку на стінках реактора, ростуть переважно на стінках або на дні посудини. Механічне перемішування в такому реакторі неможливе через малу товщину шару суспензії. Конструктивні особливості пласкопаралельних реакторів не дозволяють проводити стерилізацію автоклавуванням або текучою парою, тому він непридатний при вирощуванні культур з додаванням органічних сполук, таких як цукри або ростові речовини.

3) Трубчасті фотобіореактори.

Надзвичайно ефективною системою для високопродуктивного культивування багатьох мікроводоростей є трубчасті реактори, які поділяють на горизонтальні, вертикальні та спіральні. Загальною рисою трубчастих систем є наявність двох модулів: світлового і газомасообмінного. Фотосинтез переважно відбувається в системі прозорих трубок, які з'єднані з газомасообмінним резервуаром, і суспензія мікроводоростей постійно циркулює від резервуару по прозорих трубках і назад до газомасообмінника. Свіже живильне середовище і газова суміш надходять у газомасообмінник і звідти, завдяки насосам, у трубчасту частину реактора. Перемішування суспензії в масообміннику здійснюється

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						63
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

шляхом продування газу, який надходить в резервуар крізь отвір, розташований під ним. При додаванні свіжого живильного середовища в резервуар рівень рідини в ньому підвищується і порція суспензії мікробіодоростей відбирається крізь верхній патрубок для подальшої переробки. Таким чином, система функціонує в безперервному режимі (Рис.5.2.)

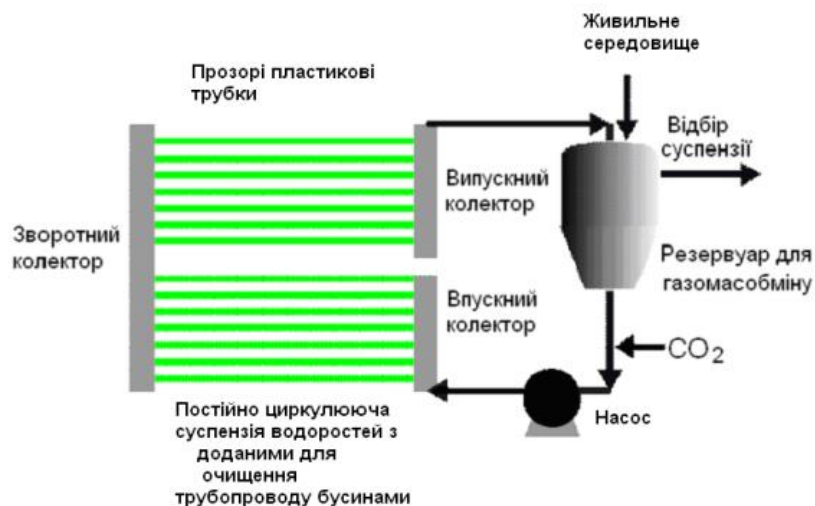


Рис. 5.2. Схема трубчастого фотобіореактора (у разі приведення культури в рух за допомогою насоса газова суміш подається безпосередньо в газомасообмінник).

У трубчастих реакторах проблема світлопостачання вирішується завдяки невеликому діаметру трубок, в яких культура мікробіодоростей може бути добре освітлена навіть у центрі (Рис. 5.3.). Це максимізує зовнішню область, доступну для фотосинтезу. Наявність резервуара для газомасообміну дозволяє культурі мікробіодоростей періодично перебувати в темряві, що є важливим для здійснення темнових метаболічних процесів. Запропоновано багато різних варіантів трубчастих реакторів, але частіше за все всі вони працюють за одним принципом. В даний час трубчасті біореактори будують з прозорих полівінілхлоридних і фторопластних трубок, що, в свою чергу, дозволяє надавати конструкції різних форм. [53]

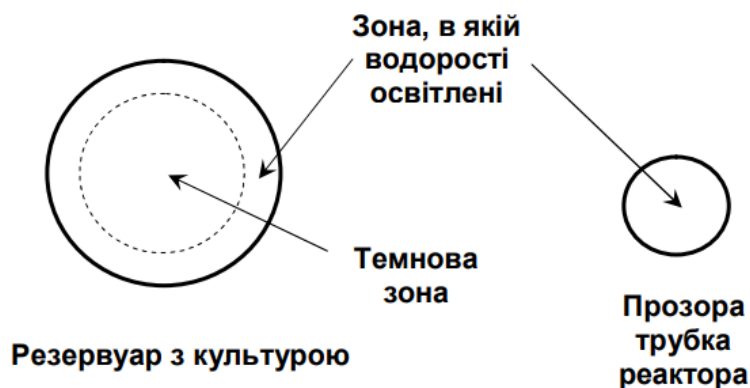


Рис. 5.3. Розподіл світла в різних частинах трубчастого фотобіореактора.

Якщо обирають гнучкі пластикові прозорі трубки, то реактор може мати форму циліндра, зрізаного конуса, що стоїть на основі або на вершині, можуть бути у формі змійовика або згорнуті в кільце. Якщо трубки жорсткі, їх з'єднують спеціальними муфтами в трубопровід. У разі циліндричної форми реактора з'являється можливість ввести джерело світла всередину циліндра і таким чином зробити конструкцію більш компактною при значному спрощенні системи розподілу світла. Розроблені реактори з вбудованими джерелами світла як без перемішуючого пристрою, так і з перемішуючим пристроєм, якому надає рух газ, що виходить, або звичайна мішалка пропелерного типу. Загальним недоліком таких реакторів є недостатня турбулентність перемішування в їх верхній частині, унаслідок чого відбувається заростання стінок реактора культурою.

Процес безперервного культивування організують шляхом одночасного відбору частини суспензії мікробіодоростей і додавання рівного об'єму свіжого живильного середовища. Для цього трубку для відведення надлишку газу занурюють у газомасообмінник на рівень, на якому бажано підтримувати суспензію мікробіодоростей. При подачі середовища рівень суспензії в газомасообміннику зростає і надлишок суспензії виводиться

разом з потоком газу. Якщо надлишок суспензії відбирається прямо з поверхні рідини в газомасообміннику, можливе часткове фракціонування культури, оскільки при гетерогенній популяції на поверхні суспензії переважають дрібні форми мікроводоростей. Для запобігання фракціонуванню закінчення трубки роблять у формі трійника, нижній кінець якого занурений у суспензію мікроводоростей, а верхній сполучений з газовою фазою. Якщо рівень рідини досягає основи трійника, вона перекриває вихід газу і, таким чином, надлишок суспензії, відібраний з глибини газомасообмінника, виходить з резервуару. [54]

Трубчастий реактор виявився зручним при лабораторному відпрацюванні регламентів культивування, а дані, отримані в лабораторії, можна екстраполювати на промисловий реактор такої ж конструкції. Проте і цей тип реактора не позбавлений недоліків, основним з яких є просторове розділення процесу фотосинтезу і газомасообміну (фотосинтез здійснюється всередині освітлюваної трубки, тоді як газообмін відбувається в газообміннику і в разі газліфтного способу перемішування - висхідній частині трубки). Тому певна фракція культури знаходиться поза освітленою частиною, де фотосинтез не відбувається. Результатом цього є просторова неоднорідність не тільки світлового режиму, але й інших параметрів процесу культивування. Культура на виході з газомасообмінника збагачена газовим субстратом (вуглекислотою і молекулярним азотом), у ній немає надлишку кисню (у разі культивування мікроводоростей і ціанобактерій). По мірі проходження по петлі освітленої трубки в процесі фотосинтезу відбувається поглинання вуглекислоти і виділення кисню. При цьому змінюються рН і окисно-відновний потенціал середовища. У разі повільного руху суспензії або при зайвій довжині світлової частини фотобіореактора вміст кисню може досягати інгібуючих концентрацій, а вуглекислота може стати фактором, який лімітує ріст.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						66
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Культитивування мікроводоростей у трубчастих реакторах має суттєву перевагу внаслідок можливості масштабування процесу і простоти виготовлення. Вони складаються з прозорої трубки невеликого діаметру (до 1,6 см для лабораторних і до 5 см для промислових реакторів) і газомасообмінника, з'єднаних послідовно (Рис. 10). Культура приводиться в рух усередині контуру за допомогою аерліфта або насоса. Прозора трубка освітлюється зовнішнім джерелом світла. У конструкціях, де використовувалися переважно скляні трубки, їх збирали у вигляді панелей із щільним розташуванням трубок одна до одної.

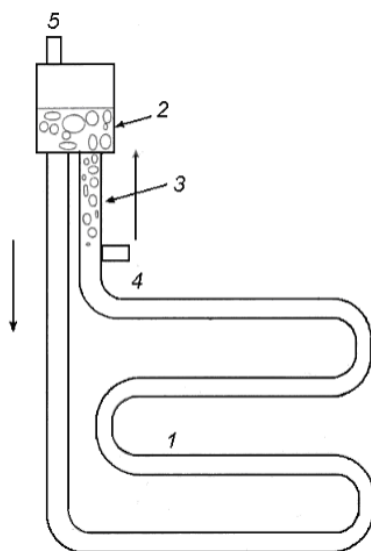


Рис. 5.4. Схема трубчастого фотобіореактора. У випадку надання культурі руху за допомогою насоса газова суміш подається безпосередньо в газомасообмінник. 1 - освітлювана частина фотобіореактора; 2- газомасообмінник; 3 – аерліфт; 4 - вхід газу; 5 - вихід газу (стрілками вказаний напрямок руху культури).

Недоліки трубчастого фотобіореактору:

- розташування трубчастої частини реактора в горизонтальній площині призводить до того, що нижня частина трубок не освітлена, а їх діаметр 0,55-0,65 м (у запатентованій моделі AlgaeLink – 0,63м) очевидно,

занадто великий, щоб забезпечити належну освітленість усього об'єму культури;

- даний тип реактора має природні обмеження на масштабування процесу шляхом простого збільшення довжини освітлюваної трубки;

4) Реактори на основі коаксіальних циліндрів.

У реакторах цього типу культура знаходиться в кільцевому проміжку між двома співвісними прозорими циліндрами. Освітлення може проводитися як зовнішнім джерелом світла, так і джерелом, розташованим на осі циліндрів усередині них. В останньому випадку реактор є більш компактним, а кількість світлової енергії, яка поглинається культурою мікроводоростей розраховується так само легко, як і в разі пласкопаралельної кювети.

Цей тип реактора має практично ті ж самі переваги і недоліки, що і пласкопаралельні фотобіореактори, описані раніше. Проте організація простору для культури у вигляді кільцевого проміжку вже дозволяє ввести механічний пристрій для перемішування, що усуває значну частину недоліків пласкопаралельної конструкції. Для цього в кільцевий проміжок вводять багатополісний магніт у вигляді кільця, який приводиться в обертання зовнішнім магнітним полем. В апараті такого типу при обертанні пристрою, який здійснює змішування в одному напрямку може виникати ламінарний рух рідини з відносно слабким перемішуванням сусідніх шарів. Крім того, можливе виникнення «тіньових» зон, де швидкість руху рідини недостатня і внутрішня поверхня реактора легко обростає мікроводоростями.

Для усунення цих явищ через певний проміжок часу (2-5 хв) відбувається реверсування руху магнітного поля за допомогою зовнішнього електронного пристрою. Щоб уникнути зриву обертання перемішуючого пристрою при реверсуванні на високих швидкостях, за допомогою зовнішнього електронного пристрою необхідна частота обертання

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						68
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

встановлюється не відразу, а плавно від нуля до заданого значення. Масштабування описаної конструкції до об'єму більше 15-20 л є проблематичним, тому зазвичай реактори такого типу відносять до лабораторних. [55]

1.5.3. Вибір фотобіореактору та його обґрунтування

Проаналізовано, що ферментери класифікують за конструкцією та за одним із трьох способів введення енергії :

- пневматичне перемішування стисненим газом;
- енергія насоса, що забезпечує рух рідинної фази у зовнішньому циркуляційному контурі;
- використання механічних пристроїв обертового або іншого типу руху.

Ферментери з введенням енергії саме стисненим газом є найбільш вживаними у практиці культивування завдяки своїй експлуатаційній надійності, що зумовлюється відсутністю рухомих елементів, тому і було обрані у даній роботі. Такі реактори бувають:

- реактори змішування;
- колонні реактори.

Вагомим недоліком ферментерів змішування є невисока інтенсивність масообміну за киснем (об'ємний коефіцієнт масопередачі — $1-2 \text{ кг/м}^3 \cdot \text{год}$). Це пояснюється недостатньою вертикальною циркуляцією середовища та недостатнім диспергуванням газу, тому було обрано саме колонний фотобіореактор, який буває:

- барботажний;
- циркуляційний (тарілчастий);
- газліфтний (ерліфтний).

За інтенсивністю масопередачі кисню, барботажні колонні фотобіореактори значно поступаються газліфтним та циркуляційним через відсутність контактних пристроїв.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						69
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Було обрано саме ерліфтний тип колонного реактору через відносну простоту його конструкції, порівняно з циркуляційним, вищий коефіцієнт заповнення апарата, незначну металоємність. Для роботи було взято саме односхідчастий колонний ферментер з вертикальною перегородкою, що відрізняється простотою конструкції та низькою металоємністю.

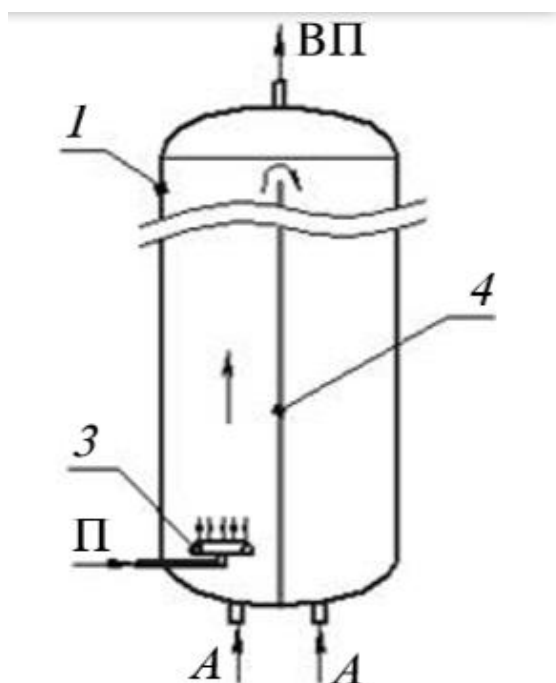


Рис. 4.5. Односхідчастий колонний ферментер з вертикальною перегородкою; 1 — корпус, 3 — газорозподільний пристрій, 4 — перегородка, А — вхід рідини, П — повітря, ВП — відпрацьоване повітря.

В якості матеріалу для побудови обраного реактора, було обрано оргскло (акрил) через низку переваг:

- *Висока міцність* (застосування оргскла виключає ризик механічного пошкодження стінок корпусу реактора);
- *Герметичність*. Для реалізації процесів біосинтезу у закритій системі необхідно створити умови абсолютної герметичності робочого

простору. Герметичність не повинна порушуватися згодом через багато років активної експлуатації обладнання.

- *Стійкість до зміни температур.* У процесі росту біологічні організми можуть потребувати дотримання різного температурного режиму. Зміна тепла і холоду не повинна сказуватись на стані корпусу реактора - оргскло повністю відповідає цій вимозі.

- *Біологічна стійкість.* Ніякі біологічні процеси, які відбуваються всередині робочої камери, не здатні змінити зовнішній вигляд або технічні характеристики оргскла. Матеріал стійкий до біологічного впливу.

- *Можливість виготовлення корпусу реактора складної форми.* Оргскло піддається будь-яким видам механічної обробки - його можна гнути, фрезерувати, точити, розрізати, видувати, шліфувати. Оброблюваність матеріалу особливо важлива при формуванні зон завантаження і вивантаження матеріалу.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						71
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

1.6. Висновки до розділу.

- Для культивування було обрано штам мікроводоростей виду *Chlorella vulgaris* , завдяки перевагам у здатності до накопичення ліпідів перед іншими видами та родами.
- За даними показників, згідно підрозділу 1.2, було обрано поживне середовище Тамія, модифіковане 30 мл/л нативною уриною, для збільшення вмісту азоту, необхідного для кращого накопичення біомаси обраного виду мікроводоростей.
- Згідно вибору технології, було з'ясовано недоліки відкритих та переваги закритих систем культивування, завдяки яким було обрано саме закриту систему.
- Було обрано проточну (безперевну) закриту систему культивування.
- Було обрано фотобіореактор із методом пневматичного перемішування стисненим газом, а саме одноступінчастий колонний реактор з вертикальною перегородкою завдяки своїй низкій металоємності, простоти конструкції а також можливістю інтенсифікації масообміну.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						72
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 2. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

2.1. Опис технологічного процесу

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1. Підготовка приміщення

Огляд устаткування персоналом до проведення технологічного процесу та експлуатації, відповідно до вимог регламенту.

Всі мийні, дезінфікуючі розчини і суміші готує блок стерилізації, що призначений за наказом відповідальної особи цеху/підрозділу/ділянки.

ДР 1.2. Підготовка обладнання

ДР 1.2.1. Мийка обладнання

Через технологічне обладнання пропускають миючі засоби. Вузли обладнання вимиваються в розчині миючого засобу при температурі 70-80°C.

Обробку фотобіореактора проводять розчином каустичної соди після кожного культивування, за температури 20°C. Потім реактор заповнюють водою до необхідного рівня. Розчин каустичної соди перемішують барботажним повітрям упродовж 15 хв. Відпрацьована вода йде до ЗВ14.

ДР 1.2.2. Стерилізація обладнання

Стерилізацію проводять шляхом подання гострої пари при температурі близько 131°C, тиску 0,2 МПа, протягом 30 хв. Після стерилізації утворений конденсат подається до ЗВ14.

ДР 2. Підготовка повітря для барботування

Аби забезпечити клітини мікроводоростей рівномірним освітленням та підтримувати рівномірний розподіл живильних речовин у фотореакторі необхідно застосовувати систему перемішування, як буває механічною, циркуляційною та барботажною. За використання трубчатих фотореакторів найчастіше здійснюють перекачування суспензії мікроводоростей з високою швидкістю. Енергетично менш затратним способом є система ерліфту (барботажний метод), для чого до фотобіореактору подається

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						73
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

барботаже повітря, яке попередньо очищається для запобігання забруднення середовища іншими видами мікроорганізмів та інгібіторами росту клітин.

ДР 2.1. Збір повітря з атмосфери

Процес збору повітря проводять за допомогою повітрязбірника **З-1**, що знаходиться за межами повітродувної станції, з точкою забору 4-6 м вище рівня землі при температурах від -20 °С до 45 °С.

ДР 2.2. Попереднє очищення повітря

Повітря пропускають крізь волокнисту касету типу G4 (груба очистка) з фільтром Ф-2 виду ФПГ (Україна), що затримує пил і частинки. Фільтрувальним матеріалом є тканина з діаметром пор 18 мкм. Ефективність очищення - 80% (ДСТУ 3186-95).

ДР 2.3. Очистка на індивідуальних фільтрах

Ретельне очищення повітря відбувається за допомогою фільтра НЕРА, ефективність якого 99,97% (Ф-3), який встановлено у фільтр Канал-ФПК типу F5 (тонка очистка повітря). Фільтр дозволяє проводити очищення від часток діаметром до 0,3 мікрон.

ДР 2.4. Збагачення барботажного повітря вуглекислим газом

Аби уникнути швидкого закиснення середовища при введенні джерела карбону – CO₂, і рівномірно його розподілити по об'єму реактора пропонується джерело живлення подавати періодично разом з барботажем повітрям (10 ÷ 15%) CO₂. На стадію ТП7 барботаже повітря подається за допомогою повітродувки П-4 виду ROBOX EVOLUTION-DV (на базі RB-DV), Росія, виробник «Dalgakiran», яка має понижену температуру газу, що дозволяє досягнути більш глибокого вакууму (до 93%), аніж RB-DV. Продуктивність до 10500 м³/год. Також, особливість такого приладу полягає у відсутності забруднення середовища часточками мастильних матеріалів. Джерелом неорганічного карбону можуть слугувати газові викиди

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						74
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

підприємств, за умови розташування фотореакторів біля виробництва, сміттєзвалищ, з яких видобувають біогаз, або ТЕС.

ДР 3. Підготовка води

Якість води в системах водопостачання може відрізнятися за вмістом неорганічних, органічних речовин, жорсткістю, солоністю, складом та концентрацією мікроорганізмів тощо, в залежності від місця знаходження виробництва. Вміст карбонатів та фосфатів може призвести до осадження в культуральному середовищі живильних елементів таких як Fe, Cu, Mo тощо, що негативно впливатиме на швидкість росту культури. Тому, рціональним є використання артезіанських свердловин глибиною від 90 м.

Для очищення води пропонується установка зворотного осмосу ВодИнТех-М (Росія) з продуктивністю 40000 л/год (40 м³/год), потужністю до 45 кВт (Ф-6; Н-7; МФ-8). За її використання видаляються органічні та неорганічні забрудники, мікроорганізми та солі Ca(HCO₃)₂, Mg(HCO₃)₂, CaSO₄, MgSO₄, CaCl₂ і MgCl₂, що обумовлюють жорсткість води.

ДР 4. Приготування поживного середовища

При вирощуванні мікроводоростей необхідно вводити у фотореактор живильні речовини у кількості, що забезпечує необхідний приріст біомаси та максимальне накопичення ліпідів у клітинах. При цьому концентрація солей не повинна перевищувати раціональну, оскільки надлишок та нестача негативно впливають на приріст біомаси та можуть змінювати метаболізм клітин. Як поживне середовище для культивування мікроводоростей було запропоновано використовувати модифіковане середовище Тамія з додаванням 30 мл/л урини.

Склад поживного середовища:

KNO₃ – 7,5; MgSO₄·7H₂O – 3,75; KH₂PO₄ – 1,25; FeSO₄·7H₂O -0,003; ЕДТА – 0,185; Ca(NO₃)₂ – 0,15; мікроелементи – 1мл/ дм³.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						75
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Розчин мікроелементів (г/ дм³): H₃BO₃ – 2,86; MnCl₂·4H₂O – 1,81; ZnSO₄·7H₂O – 0,222; MoO₃ – 0,018; NH₄VO₃ – 0,023; NaWO₄·H₂O – 0,033.

+ нативна урина – 30 мл/ дм³.

Розчини мікроелементів та основних компонентів поживного середовища готуються в різних ємностях при інтенсивному перемішуванні.

Умови приготування поживного середовища:

- Використовується дистильована вода;
- Реактиви використовуються при мінімальному ступеню чистоти «чистий»;
- Розчин солей заліза разом з хелатуючим агентом готують і вносять в середовище окремо;
- Розчин мікроелементів готують останнім і вносять в середовище окремо;

Розчини мікроелементів та основних компонентів поживного середовища готуються у різних ємностях при інтенсивному перемішуванні.

ДР 4.1. Підготовка дистильованої води

Використана вода поступає з ДР3 і проходить окремо процес дистиляції. Після чого, поступає до ДР4.2 і до ДР4.3, перемішуючись з розчинами макро- і мікроелементів. Суміш надходить до ДР4.4. на стерилізацію.

ДР 4.2. Підготовка розчину макроелементів

При інтенсивному культивуванні водоростей живильне середовище, як правило, барботують вуглекислим газом. Збагаченню середовища джерелами вуглецю сприяє також внесення в середу бікарбонату натрію і

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						76
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

органічних речовин. Гідрокарбонат-іон в розчині знаходиться в рівновазі з розчиненим вуглекислим газом.

Азот і фосфор вносять в поживні середовища у формі солі калію - нітратів і фосфатів. Концентрації азоту і фосфору в переважній більшості прописів живильних середовищ, опублікованих в літературі, майже в 100 разів перевищують концентрації даних біогенів в природних водах. Для природних водойм такі концентрації біогенів означали б катастрофічну евтрофікацію. Тому дані поживні середовища не можна застосовувати для природної культури і застосовують для інтенсивної культури (максимальний збір біомаси у мінімальні строки часу в мінімальній кількості поживного середовища; для промислового виробництва). Сірку вносять у формі сульфату, в даному випадку - сульфату магнію $MgSO_4 \cdot 7H_2O$.

В якості хелатуючих агентів в поживні середовища вносять ЕДТА (етилендіамінтетраоцтова кислота), якщо для приготування середовища використовувалися реактиви та вода, в ступені очищення яких є сумніви, а також при низьких вихідних концентраціях клітин в культурі.

Підготовлена вода змішується з макроелементами у змішувачі Зм-9 при інтенсивному перемішуванні, яке забезпечується турбінними мішалками VMP-680.

ДР 4.3. Підготовка розчину мікроелементів

Потреба різних видів водоростей в мікроелементах відрізняється. В якості мікроелементів для розвитку *Chlorella vulgaris* в поживні середовища вносять Fe, Mn, V, Mo, W, Ni, B, Zn.

У змішувачі Зм-10 перемішування здійснюється за допомогою турбінних мішалок серії VMP-680, Україна. Потужність мішалки - 1 кВт, частота обертів - 680 об/хв. Змішувачі обладнані шнековими дозаторами ДШ2-1.

ДР 4.4. Стерилізація поживного середовища

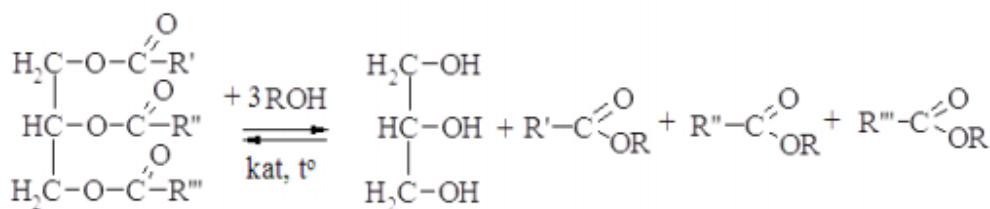
					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						77
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Процес стерилізації стандартного середовища необхідний для запуску процесу вирощування мікроводоростей *Chlorella vulgaris*. У разі використання витяжки нативної урини для приготування поживного середовища, стадія стерилізації є необхідною.

Процес стерилізації проводять протягом 25 хвилин, тиск - 0,2 МПа, при температурі - 130°C в автоклаві А-11, куди подаються розчини мікро- та макроелементів після змішувачів Зм-9 та Зм-10.

ДР 5. Приготування розчину метоксиду для переестерифікації

Для приготування біодизельного палива використовують естери жирних кислот. Для їх отримання проводять реакцію переестерифікації триацилгліцеролів за подібною реакцією:



Найбільш розповсюдженою технологією в Україні та світі є використання метанолу та гідроксиду натрію як каталізатора (для прискорення реакції метанолізу використовують частіше саме лужні каталізатори). Для підвищення виходу естерів метанол необхідно брати у надлишку (на 5% більше від стехіометричного розрахунку), каталізатор - 10% від маси метанолу. Для виготовлення 1 т біодизельного палива необхідно 111 кг метанолу і 12 кг лугу.

Метанол подається через рідинний насос - дозатор у змішувач Зм-12 виду ТЕК-2БМ, який обладнано турбінною мішалкою як і у Зм-9 та Зм-10.

До метанолу з дозатора ДШ2-1 додається NaOH. Змішування речовин відбувається протягом 15 хв. до досягнення гомогенного розчину.

ДР 6. Приготування розчину для промивки біодизелю

Біодизельна фракція містить залишки лугу, метанолу, гліцеролу, мила та води, які впливають на якість біодизельного палива. Для її очищення від домішок використовують розчин нітратної кислоти (10%-вий). Розчин готують шляхом розведення концентрованої кислоти. У змішувач Зм-13 (з турбінною мішалкою виду як у Зм-9;10;12) до води, яку подають зі стадії ДР3, через об'ємний дозатор вносять визначену кількість 65% нітратної кислоти при інтенсивному перемішуванні протягом 20 хв.

ТП 7. Культивування мікроводоростей у фотобіореакторі

Підготовлене та простерилізоване поживне середовище з автоклаву А-11 надходить до ФБ-15 і змішується з інакулянтом для подальшого культивування. При безперервному культивуванні здійснюється постійна подача поживного середовища і відвід кисню, що утворюється в процесі життєдіяльності мікроорганізмів. Перемішування здійснюється барботажним методом періодично за використання ерліфтною системи (барботажна суміш містить вуглекислий газ та повітря).

Освітлення культури здійснюється штучно - світлодіодними світильниками. Освітлення світлодіодами здійснюється - 16 год. світло 8 год./темрява. Світлодіоди встановлюють для максимально рівномірного освітлення культури. Для розвитку клітин мікроводоростей *Chlorella vulgaris* необхідно освітлення довжинами хвиль 450 та 675 для хлорофілу *a* та 475 та 625 нм для хлорофілу *b*, та 520 – 555 нм для каротиноїдів. Співвідношення світлодіодів у блоці 1:1:1, відповідно, 1 червоний (640 – 700 нм), 1 синій (450 – 480 нм), 1 зелений (520 – 555 нм). Тривалість освітлення і його періодичність може регулюватись.

Барботажне повітря подається з ДР 2.4. через інжектор з нижнього боку реактора. Швидкість подачі барботажного повітря становить 60 дм³ /год. З балону Б-5 СО₂ через редуктор У-30 П36V, Україна, (потужність 200 Вт) кожні 4 год. надходить до барботажного повітря. Швидкість потоку

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						79
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

встановлюється для забезпечення 10% концентрації CO₂ у барботажній суміші. Температурний режим у фотобіореакторі підтримується за рахунок нагріву світлодіодних ламп С-16. Температура регулюється за допомогою датчика температури і системи контролю з декількома каналами управління. За розташування фотобіореакторів у закритому приміщенні можливо створювати необхідний температурний режим повітря у закритому просторі, а знаходження виробництва поряд з ТЕС та АЕС дозволяють використовувати надлишкове тепло для додаткового нагріву.

ТП 8. Відділення біомаси мікроводоростей від культуральної рідини

ТП 8.1. Обробка суспензії ультразвуком

За допомогою насосу суспензія водоростей подається у збірник Зб-18, де обробляється ультразвуком через випромінювачі УЗ-19 частотою 45 кГц протягом 5 хв. Опромінення ультразвуком сприяє загибелі клітин та пришвидшує їх осадження. Надосадова рідина або використовується як рідина для поживного середовища (можливе повторне використання від 10 до 20 разів) поступаючи знову до ФБ-15, або як добриво, або для отримання біометану. Осад проходить далі на фільтрування на фільтр-пресі Ф-21.

ТП 8.2. Фільтрування на фільтр-пресі

Біомаса подається у фільтр-прес Ф-21 насосною системою Н-22 та проходить вздовж довжини пластин, доки усі камери не заповняться суспензією. Під тиском, тверді частинки починають осаджуватися на поверхні фільтрувальної тканини, густина осаду поступово збільшується.

Осад подається насосом на фільтр прес Hbracol 200, (400), США. Площа фільтрації 1 пластини 400 см², кількість пластин варіює від 20 до 80 загальною площею від 3 до 12,5 м², робочий тиск до 8 бар, продуктивність 7 м³/хв.

ТП 9. Сушіння біомаси мікроводоростей

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						80
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Оскільки клітини мікроводоростей містять 90% і більше води, для одержання олії пресуванням необхідно довести вміст вологи до 10%. Після фільтрації на Ф-21 біомаса у вигляді спресованих пластин транспортується за допомогою піддонів до барабанної сушарки БСШ-5 (Су-23). Температура висушування становить 110 ± 5 °С.

ТП 10. Виділення олії з біомаси мікроводоростей на пресі

Одержана суха біомаса за допомогою шнекового транспортера подається у прес екструдер. За допомогою шнекового пресу М-24 виду М8-МШП (із продуктивністю до 100 кг/год; кількість залишку олії у жмиху на абсолютно сухий вхідний продукт становить до 7%), з біомаси мікроводоростей вилучають олію, температура олії на виході не перевищує 60° С, що запобігає окисненню. Потужність становить 9 кВт.

ТП 11. Очистка олії

Очищення олії здійснюється за допомогою фільтру Ф-25, що входить до складу шнекового пресу Ш-24. За необхідності з метою освітлення олії можливо додавання освітлюючих адсорбентів під час фільтрування олії.

ТП 12. Приготування біодизелю

Приготування біодизелю здійснюється за технологією з використанням метанолу та гідроксиду натрію (розчину метоксиду), який підготовлений на стадії ДР5.

ТП 12.1. Проведення естерифікації

Олія надходить до реактора з рециркуляцією Р-26 виду ТЕК-2БД за допомогою вмонтованого насоса, де відбувається нагрівання та перемішування олії з розчином метоксиду, який надходить з ДР-5. Спирт та каталізатор попередньо змішуються у змішувачі Зм-12, реакція проводиться протягом 2 год.

ТП 12.2. Відстоювання та фракційне розділення

Після проведення естерифікації суміш поступає у ємності для відстоювання В-27. Відстоювання проводять протягом 30 хв., після чого

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						81
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

гліцеролову фракцію (побічний корисний продукт) зливають і відправляють на інше виробництво.

ТП 12.3. Промивання біодизелю водою та відстоювання

Біодизель відділений від гліцеролу поступає у другий осаджувач В-28, оснащений душем для подачі підкисленої води для промивання біодизелю. Після відстоювання протягом 30-40 хв. відпрацьовану воду відправляють на знешкодження, біодизель зливають у збірник 3б-29, де відбувається відстоювання протягом 2 діб. За цей період залишки води, яку не вдалося видалити під час попередньої технологічної операції відстоювання, опускаються на дно ємності.

ТП 12.4. Сушіння біодизелю у збірнику

ПВ 13. Переробка відходів

На дану стадію поступають:

1. Гліцерол з ТП12.2: збирається та транспортується на виробництва фармацевтичного або косметологічного напрямків для реалізації та отримання додаткового доходу.
2. Жмих з ТП10: можливе транспортування жмиху для реалізації в якості добрив, заради створення додаткового доходу підприємства.
3. Відпрацьовані фільтрувальні елементи: транспортуються на полігони для нейтралізації або утилізації.

ЗВ 14. Знешкодження відходів

На дану стадію поступають:

1. Відпрацьована вода: поступає на очисні споруди підприємства (можливі два випадки – власне незалежне підприємство по виробництву біодизелю або на очисні споруди належного підприємства, наприклад ТЕС або АЕС які забезпечують виробництво біодизелю додатковою теплоенергією та CO₂)
2. Відпрацьоване поживне середовище (після 10-20 разів вторинного використання): транспортується на ліквідацію.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						82
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

2.2. Розрахунок фотобіореактора

Розрахунок виробничої потужності.

Згідно з невеликих об'ємів підприємства та відносно новітньої та невідомої на ринку технологією отримання ліпідів пропонується проект виробництва біодизелю в обсязі **100 000 дм³/рік**.

Тривалість виготовлення партії, виходячи з найдовшої стадії виробництва, а саме культивування мікроводоростей *Chlorella vulgaris* у ферментері, становить **12 діб**. При безперервному режимі роботи підприємства, враховуючи **30** днів на зупинки, ремонти, очищення обладнання і т.д. та партійність виробництва, проектна продуктивність праці підприємства:

$$Q_{\text{пр}} = \frac{V}{T} \cdot t = \frac{100000}{335} \cdot 12 = 3582 \text{ дм}^3/\text{партію},$$

За 1 день – 299 дм³

де $Q_{\text{пр}}$ – проектна продуктивність праці підприємства, V – загальна запланована потужність підприємства на рік, T – тривалість календарного року; t – час культивування.

Для ферментерів номінальним об'ємом 1 м³, що використовуються на виробництві при обраному режимі роботи партійна продуктивність складає 0,6 м³ (600 літрів) культуральної рідини на партію.

Для стандартної технології одержання біодизелю з ліпідів коефіцієнт перерахунку ліпідів на метилові естери жирних кислот складає 95%. Кількість ліпідів, що необхідна для виробництва такої кількості біодизелю:

$$m_{\text{ліп}} = \frac{m_{\text{бд}}}{w_{\text{ліп} \rightarrow \text{бд}}} = 299/0,95 = 315 \text{ кг},$$

де $m_{\text{ліп}}$ – маса ліпідної фракції, кг; $m_{\text{бд}}$ – маса біодизелю яку необхідно одержати, кг; $w_{\text{ліп} \rightarrow \text{бд}}$ – відсоток переходу ліпідів до естерів. За запропонованою технологією культивування вміст ліпідів складає 51%.

Тому кількість біомаси, яку необхідно наростити складає:

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						83
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

$$m_{\text{бм}} = \frac{m_{\text{ліп}}}{w_{\text{бм} \rightarrow \text{ліп}}} = 315 / 0,51 = 617 \text{ кг},$$

де $m_{\text{бм}}$ – суха біомаса мікроводоростей, кг; $m_{\text{ліп}}$ – маса ліпідів, яку необхідно одержати, кг; $w_{\text{бм} \rightarrow \text{ліп}}$ – вміст ліпідів у біомасі *Chlorella vulgaris*.

Концентрація біомаси становить 2 кг/м³.

Загальний об'єм виробництва складає:

$$V_{\text{заг}} = m_{\text{бм}} / C_{\text{бм}} = 617 / 2 = 309 \text{ м}^3,$$

Об'єм кришки і днища складає 30% об'єму реактора, їх об'ємом можна знехтувати оскільки 30% відповідає вимогам до коефіцієнта заповнення.

Кількість реакторів для виробництва 299 кг/добу біодизелю складатиме:

$$N = V_{\text{заг}} / V_{\text{фбр}} = 309 / 0,84 = 368 \text{ шт},$$

Для перемішування культурального середовища в реакторі встановлено систему ерліфту. Подача повітря встановлюється на рівні 1 дм³/хв. Барботування проводиться протягом 24 годин. Загальна швидкість пропускання повітря ($Q_{\text{бп}}$) складає:

$$Q_{\text{бп}} = N \cdot 1 \cdot 24 \cdot 60 = 529920 \text{ дм}^3 / \text{добу},$$

Вміст вуглекислого газу для оптимальної швидкості нарощування має складати 10% від об'єму барботажного повітря, що вводиться періодично. Маса CO₂, що використовується на 1 реактор складає 60 кг/год, що входить до «інтенсивної продувки» і є раціональним значення для культивування обраного штаму саме на середовищі Тамія модифікована.

Конструктивний розрахунок

Вихідні дані для розрахунку:

Загальний об'єм апарату:

$$V_{\text{заг}} = 1 \text{ м}^3;$$

Коефіцієнт заповнення:

$$K_z = 0,8;$$

Розраховуємо загальний об'єм апарата:

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						84
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

$$V_p = V_{\text{заг}} \cdot K_3 = 1 \cdot 0,7 = 0,8 \text{ м}^3$$

Внутрішній діаметр апарата приймаємо:

$$D_{\text{вн}} = 800 \text{ мм.}$$

Еліптичні днища за ГОСТ 6533-78 для апарата вказаного діаметра мають наступні характеристики [1]:

внутрішній діаметр	$D_{\text{вн}} = 800 \text{ мм}$
внутрішня поверхня	$F = 0,76 \text{ м}^2$
висота еліптичної частини	$h_{\text{е}} = 200 \text{ мм}$
висота відбортованої частини	$h_{\text{І}} = 25 \text{ мм}$
товщина стінки	$S = 4 \text{ мм}$
об'єм днища	$V_{\text{дн}} = 0,0793 \text{ м}^3$

Для даного апарату обрано товщину стінки

$$s = 4 \text{ мм.}$$

Повна висота днища апарату [2]:

$$h_{\text{дн}} = h_{\text{е}} + h_{\text{І}} = 25 + 200 = 225 \text{ мм}$$

Висота рідини в апараті розраховується за формулою [3]:

$$H_p = \frac{4(V_p - V_{\text{дн}})}{\pi D^2} + h_{\text{дн}} = \frac{4(0,8 - 0,0793)}{3,14 \cdot (0,8)^2} + 0,225 = 1,65 \text{ м}$$

де $V_{\text{дн}}$ – об'єм рідини в днищі, м^3 ;

$h_{\text{дн}}$ – висота днища

Повний об'єм реактора V_n розраховуємо за формулою [4]:

$$V_n = V_{\text{ц}} + 2 \cdot V_{\text{дн}}$$

звідки знаходимо об'єм циліндричної частини апарату [3]:

$$V_{\text{ц}} = V_n - 2 \cdot V_{\text{дн}} = 1 - 2 \cdot 0,0793 = 0,8414 \text{ м}^3.$$

Висота циліндричного апарату [3]:

$$H_{\text{ц}} = \frac{(V_n - 2 \cdot V_{\text{дн}})}{F_{\text{пер}}} = \frac{V_{\text{ц}}}{F_{\text{пер}}};$$

де $F_{\text{пер}}$ – площа перерізу по внутрішньому діаметру, що розраховується за формулою [3]:

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						85
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

$$F_{\text{пер}} = 0,758 \cdot D_{\text{ВН}}^2 = 0,785 \cdot (0,8)^2 = 0.5024 \text{ м}^2$$

Тоді:

$$H_{\text{ц}} = \frac{V_{\text{н}} - V_{\text{дн}}}{F_{\text{пер}}} = \frac{V_{\text{ц}}}{F_{\text{пер}}} = \frac{0.8414}{0.5024} = 1.675 \text{ м}$$

Загальна висота апарату без приводу, без штуцерів, без опор складає [3]:

$$H_{\text{заг}} = H_{\text{ц}} + 2 \cdot (h_{\text{в}} + h_1) + 2S = 1.675 + 2 \cdot (0,025 + 0,2) + 2 \cdot 0,004 = 2.133 \text{ м}$$

Розрахунок опорних конструкцій апарату

Маса пустого апарату:

$$m = 625 \text{ кг}$$

Маса заповненого апарату:

$$M = m + \rho \cdot V_p = 625 + 1100 \cdot 0,8 = 1505 \text{ кг}$$

де ρ – густина біомаси в ферментері

Визначення навантаження на одну лапу:

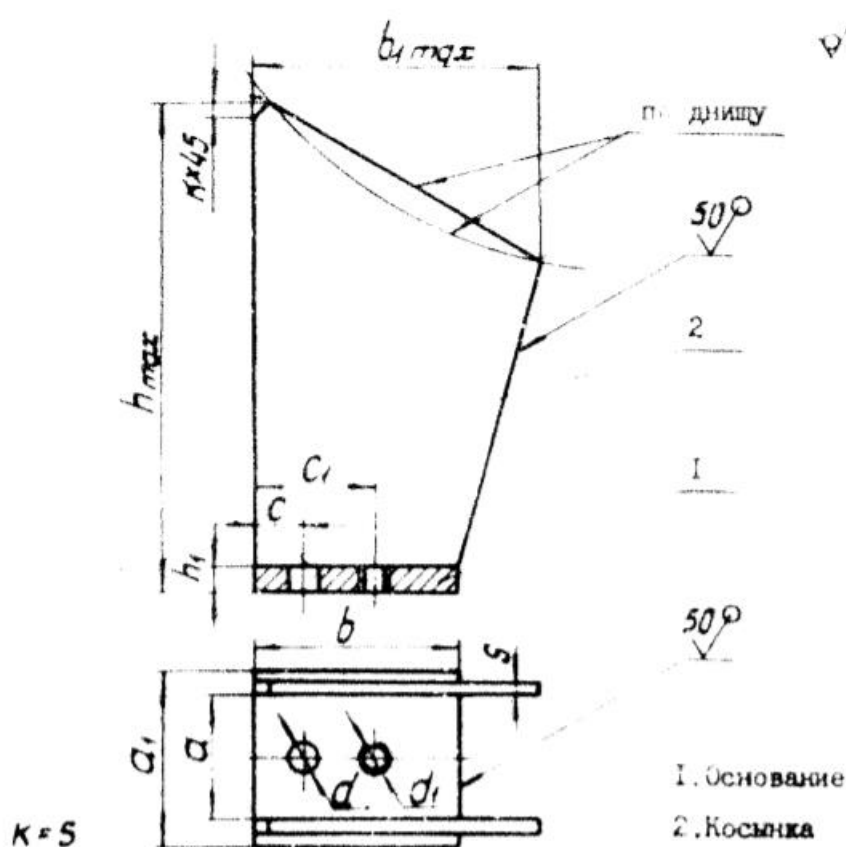
$$Q = \frac{G_{\text{max}}}{n} = \frac{1600}{4} = 400 \text{ Н} = 0,4 \text{ кН}$$

де G_{max} – максимальна маса заповненого апарату,

n – кількість опор

За ОСТ 26-665-87 обираємо опору із наступними характеристиками:

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						86
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		



Черт. I

Таблица I

Размеры в мм											
Нагрузка на опор. кН, не более	a	a_1	b	b_{max}	c	c_1	h_{max}	h_1	s	d	d_1
4	75	100	86	120	22	50	220	10	6	19	M12

Перевірка тиску апарату на фундамент:

$$q = \frac{Q}{F_{\text{опори}}} = \frac{Q}{a_1 \cdot b} \leq [q]$$

$$q = \frac{Q}{a_1 \cdot b} = \frac{0,4}{0,1 \cdot 0,12} = 33333,33 \text{ Па} = 0,033 \text{ МПа}$$

де

$F_{\text{оп}}$ - площа опорної поверхні лапи;

$[q] = 1,6 \text{ МПа}$ - для цегляної кладки;

$[q] = 2 \div 4 \text{ МПа}$ - для бетонного фундаменту.

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

ЕКБ.БЕ5101.ДП

Арк.
87

Оскільки умова виконується в подальшому можна використовувати таку опору як для цегляної кладки так і для бетонного фундаменту.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						88
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

2.3. Матеріальний баланс

Таблиця 2.1. Матеріальний баланс процесу виробництва біодизеля з ліпідів мікроводоростей.

Використано			Отримано		
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість, кг	Стадія	Назва кінцевого продукту/напівпродукту, відходів та втрат	Кількість, кг
Стадія отримання інокулянту	Вода	160	Стадія отримання інокулянту	Інокулянт	200
	Паста <i>Chlorella vulgaris</i> (паста живого штаму, згущена в 100 разів)	40			
Стадія отримання поживного середовища	Вода	752,196	Стадія отримання поживного середовища	Поживне середовище Тамія модифіковане нативною уриною	800
	KNO ₃	7,5			
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	3,75			
	KH ₂ PO ₄	1,25			
	Ca(NO ₃) ₂	0,15			
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,003			
	ЕДТА	0,185			
	Нативна урина	30			
	H ₃ BO ₃	2,86			
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	1,81			
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,222			
	MoO ₃	0,018			
	NH ₄ VO ₃	0,023			
	NaWO ₄ ·H ₂ O	0,033			
Стадія культивування	Поживне середовище	900	Стадія культивування	Культуральна рідина	995
	Інокулянт	100		Втрати	5
Стадія	Суха біомаса	400	Стадія	Суміш ліпідів	204

виділення олії			виділення олії	Інші речовини	196
Стадія переестерифікації	Суміш ліпідів	204	Стадія переестерифікації	Ефір	210
	Спирт (метанол)	33		Вода	22,65
	Каталізатор (NaOH)	3		Гліцерин	12
	Кислота	8,38		Сіль	3,73
ВСЬОГО	2648,38		ВСЬОГО	2648,38	

РОЗДІЛ 3. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДІВКІЛЛЯ

Підвищення технічної оснащеності сучасних підприємств, застосування нових матеріалів, конструкцій і процесів, підвищення швидкостей і потужностей машин впливають на характер і частоту нещасних випадків і захворювань на виробництві.

Автоматизація виробництва зменшила затрати праці на одиницю продукції, однак з'явився ряд проблем, пов'язаних з підвищенням нервово-психічного навантаження на операторів, тощо. Закон «Про охорону праці» зобов'язує роботодавця створити задовільні умови на кожному робочому місці відповідно до нормативно-правових актів, а також забезпечити додержання вимог законодавства щодо прав працівників у галузі охорони праці [57].

Сьогодення, охорона праці й поліпшення умов праці є одним з найважливіших завдань. Безпечне ведення технологічного процесу знижує можливість травматизму, підвищує працездатність обслуговуючого персоналу. Установки повинні мати конструкцію, компоновку устаткування і трубопроводів, які забезпечують умови роботи обслуговуючого персоналу відповідно до діючих норм техніки безпеки і ергономіки. На персонал впливають такі фактори як: можливість ураження електричним струмом, шум, вміст газових домішок у повітрі, які можуть привести до вибуху та отруєння, біологічне ураження продуктом. Основні фактори:

- 1) виробничий шум і вібрації;
- 2) повітря робочої зони;
- 3) електробезпека;
- 4) пожежна та вибухонебезпека;

Найбільш часті причини аварій посудин, що працюють під тиском, це невідповідність конструкції максимально допустимому тиску і температурі; втрата механічної міцності апарата (корозія, внутрішні дефекти металу, місцеві перегріву); невиконання встановленого режиму роботи; недостатня

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						91
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

кваліфікація обслуговуючого персоналу; відсутність належного технічного нагляду. Вимоги безпеки, що пред'являються до конструкції, виготовлення, та експлуатації посудин, що працюють під тиском, визначені «Правилами будови і безпечної експлуатації посудин, що працюють під тиском».

Рівень шуму та вібрацій. Приміщення, в якому розміщена лінія являє собою закритий тип. Основними джерелами шуму при роботі вважаються електродвигуни, компресори та інше устаткування в яких шум може досягнути значення 90 дБА. Згідно норм ДСН 3.3.6.037-99 шум, при роботі, не повинен перевищувати значення в 80 дБА [58]. Заходи і матеріали, які застосовуються для пониження рівня шуму механічного походження включають:

- використання облицювального шумоізоляційного матеріалу з перфоруванням;
- звукоізоляція устаткування за допомогою глушників, резонаторів, кожухів, захисних конструкцій, тощо;
- звукоізоляція дверного проїому приміщення, покриття стін та підлоги;
- своєчасне змащування всіх поверхонь, що труться; – застосування раціональних конструкцій, нових матеріалів і технологічних процесів.

Дані заходи дозволяють знизити рівень шуму до прийнятного згідно з ДСН 3.3.6.037-99 [58].

Повітря робочої зони. Вентиляційна система має забезпечити виведення пилу (до 18 мкм) з приміщення і доведення якості повітря до встановлених норм. Для індивідуального захисту працівників від летючих

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						92
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

подразників застосовують респіратори, протигази, захисні костюми. Аеродинамічні випробування вентиляційних систем проводять не рідше одного разу на рік, а також після кожного капітального ремонту або реконструкції.

Якщо вентиляційна система не забезпечує нормальних умов і чистоти повітря у приміщеннях, то застосовують систему кондиціонування повітря. Необхідно забезпечити захист працівників від елементів устаткування, нагрітих до високих температур і теплового випромінювання яке не повинно перевищувати $q = 350 \text{ Вт/м}^2$. Апарати повинні мати теплоізоляцію з мінеральної вати товщиною від 10 см, що забезпечить прийнятну температуру на поверхні барабана і теплове випромінювання відповідно до ДСН 3.3.6.042-99 [59]. Перед запуском технологічних апаратів необхідно провести промивку і продувку всіх комунікацій і устаткування, перевірити їх герметичність. Всі насоси, завантажувальні пристрої та інші механізми і машини перевіряють без навантаження і під навантаженням на інертних середовищах. Приміщення обладнанні стендами з зазначеними правилами техніки безпеки, правилами з експлуатації установки, стендами з планом евакуаційних виходів. Перед початком робіт працівники повинні проходити інструктаж з техніки безпеки.

Електробезпека. Приміщення операторної згідно ПУЕ-2017 відноситься до приміщень із підвищеною небезпекою, тому що можливий одночасний дотик людини до з'єднаних під землею технологічних апаратів і металевих корпусів електроустаткування [60].

Основні причини нещасного випадку від впливу електричного струму наступні:

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						93
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

– випадковий дотик або наближення на небезпечну відстань до струмопровідних частин, що перебувають під напругою;

– поява напруги на конструктивних металевих частинах електроустаткування - корпусах, кожухах - у результаті ушкодження ізоляції й інших причин;

– виникнення крокової напруги на поверхні землі в результаті замикання дроту на землю.

Щоб уникнути нещасних випадків застосовується захисне занулення із глухозаземленою нейтраллю. Щоб уникнути ураження від статичної електрики, тому що приміщення категорійне, робиться сітка з металевих пластин перетином 25×4 мм, що розташовується по периметру приміщення, і до якої приєднують мідним дротом $S = 10 \text{ мм}^2$ металеві частини апаратів й устаткування, які перебувають у цьому приміщенні. Для забезпечення безпечної роботи з електроустаткуванням – кабелі та дроти вкладені в труби й захищені під підлогу, рубильники ввімкнення закриті в спеціальні шафи, при роботі з електроінструментами застосовуються індивідуальні засоби захисту.

У зв'язку з вищевикладеним пропонується дотримуватися наступних правил техніки безпеки й проводити наступний комплекс заходів щодо забезпечення електробезпечності на проєктованій ділянці:

1. Для запобігання небезпеки ураження електричним струмом, устаткування повинне мати надійний металевий зв'язок корпусів електродвигунів, щитів, постів електроапаратури і сталевих труб електропроводки із заземлювальним контуром.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						94
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

2. При експлуатації електроустаткування необхідно дотримуватися наступних правил безпечної роботи:

- забороняється доторкатися до електропроводів, робити ремонт електроустаткування, знімати й установлювати електролампи, запобіжники й інші деталі електроустаткування особам, які не мають права допуску;

- входити в розподільну щитову, відкривати електрозбірки, входити в місця, де висять таблички «Вхід заборонений», «Небезпечно для життя» й інші попереджувальні написи. Вхід дозволяється чітко обмеженому колу людей з дотриманням правил про допуск;

- для переносного освітлення користуватися лампами напругою не більше 12 В;

- перед проведенням ремонтних робіт на встаткуванні лінії електродвигуни повинні бути зупинені, знеструмлені й від'єднані від приводів, на пускових кнопках повинні бути вивішені плакати «Не вмикати, працюють люди». Відключення електроенергії проводиться електриком;

- відповідальний електрик за електрогосподарство лінії систематично перевіряє відповідність заземлення устаткування правилам технічної експлуатації, особливо після його ремонту;

- установлення плакатів і знаків безпеки.

Пожежна безпека. На лінії виробництва біодизеля горючими речовинами є: біодизель, етиловий спирт та мастило, яким змазуються частини конструкції. Пожежні характеристики небезпечних речовин, матеріалів:

Мастило: Температура займання 300°C; температура самозаймання 370°C.

Біодизель: Температура займання 285°C; температура самозаймання 320°C.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						95
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Етиловий спирт: Температура займання 13°C; температура самозаймання 404°C.

Біодизель є вибухонебезпечним матеріалом, відноситься до горючих матеріалів, тому технологічний процес утилізації біодизеля відноситься до категорії В (ДСТУ Б В.1.1-36:2016) [61]. Згідно ПУЕ клас зони установки П-Па (зони, розташовані в приміщеннях, в яких зберігаються горючі речовини). Цех в якому знаходиться установка виробництва біодизеля будується з використанням негорючих матеріалів (бетона, залізобетона), тому стійкість споруди за ДБН В.1.1-7-2002 відповідає ступеню вогнестійкості II [62].

В разі виникнення пожежі встановлені датчики-сповіщувачі, які спрацьовують при підвищенні температури до 89°C. Для гасіння невеликих ділянок загорання при виключеному та включеному (до 1000В) електроустаткуванні застосовують вуглекислотні вогнегасники ОУ-5 (2 шт.) та порошкові ОП-10 (2 шт.).

Як стаціонарні засоби пожежогасіння встановлені самоспрацьовуючі вогнегасники САМ-9 (25 шт). У приміщенні, де розташовується установка, на відстані 30 метрів одне від одного встановлені пожежні гідранти з рукавами довжиною до 10 метрів. Відстань до пожежного виходу не більше 40 метрів. Відповідно до ДБН В.1.1-7-2002 кількість виходів - не менше двох. Ширина дверей евакуаційного виходу - 2 метри. Двері евакуаційного виходу відкриваються на зовні [62].

Охорона навколишнього середовища. Заміна агресивних і канцерогенних екстракторів ліпідів з біомаси, таких як формальдегід в суміші з метанолом, на систему надкритичної екстракції значно зменшує антропогенне навантаження на навколишнє середовище і попреджає

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						96
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

можливий викид забруднюючих речовин. До того ж, CO₂ у системі можна використовувати повторно за наявності обладнання з очистки та зрідження газу.

Застосування біодизеля в традиційних дизельних двигунах значно знижує викиди в атмосферу вуглеводнів, оксиду вуглецю, сульфатів, ароматичних вуглеводнів і твердих частинок в порівнянні з нафтопродуктами. Крім того, і це особливо важливо, використання біодизеля скорочує кількість викидів в атмосферу токсичних і канцерогенних речовин. Використання чистого біодизеля (100%) може знизити ризик ракових захворювань на 94%.

Суміш, що складається з 80% звичайного дизеля і 20% біодизеля (В 20), зменшує ризик ракових захворювань на 26%. Завдяки тому, що біодизель не містить сірки, при його спалюванні в атмосферу не надходить SO₂. А високий вміст в біодизелі кисню сприяє більш повному спалюванню CO₂. Крім того, у викидах скорочується вміст вуглецю в формі твердих частинок. У порівнянні з "викопним" дизелем, при спалюванні чистого біодизеля обсяги викидів в атмосферу діоксиду вуглецю зменшуються більш ніж на 75%, а при спалюванні 20% біодизеля - на 15%.

Таблиця 3.1. Викиди в атмосферу при спалюванні чистого біодизеля [63].

	Співвідношення викидів для біодизеля і дизеля
Монооксид вуглецю	-45%
Вуглеводні	-56%
Тверді частинки	-55%

Оксиди азоту	+5%
Мутагенність	-80 – 90%

Сільськогосподарські апарати мають можливість працювати на біодизелі, що відразу ж приведе до підвищення рівня екологічного стану. Крім того, при витоку біодизеля ніякої шкоди навколишньому середовищу не буде нанесено, адже при попаданні в ґрунт або воду за 28 днів відбувається розкладання 99% біодизеля під дією мікроорганізмів.

ВИСНОВКИ

Було досліджено процес культивування мікроводоростей для подальшого отримання біодизельного палива, визначено актуальність даного напрямку енергетики та описано технологічні рішення, необхідні для реалізації проектування.

Було виконано наступні завдання:

1. Було проведено літературний огляд стосовно існуючих видів мікроводоростей, що використовуються у якості енерго-джерела, умов, параметрів їх культивування, а також біосинтез та існуючі технології виробництва біодизелю, та можливість використання його корисних побічних продуктів. За проведенням оглядом літератури було обрано закриту проточну систему культивування мікроводоростей виду *Chlorella vulgaris* з використанням поживного середовища «модифікована Тамія» з додаванням урини у одноступінчастому фотобіореакторі колонного типу з вертикальною перегородкою.
2. Було обґрунтовано та обрано раціональні параметри культивування мікроводоростей для отримання біодизелю. Культивування відбувається впродовж 12 днів у одноступінчастому фотобіореакторі з підтриманням рівня $pH=6,7\pm0,3$ та температури $30\pm2^{\circ}C$.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						98
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

3. Було розраховано технічні показники одноступеневого аерліфтного фотобіореактору колонного типу з вертикальною перегородкою та матеріальний баланс. Результатом є використання на виробництві 368 фотобіореакторів загальним об'ємом ($V_{\text{заг}}$) 1 м^3 і робочим об'ємом ($V_{\text{цил}}$) $0,8\text{ м}^3$ кожний для отримання $100\,000\text{ дм}^3$ біодизелю в рік. Маса CO_2 , що використовується на 1 реактор складає $60\text{ дм}^3/\text{год}$ ($1\text{ дм}^3/\text{хв}$), що входить до «інтенсивної продувки» і є раціональним значенням для культивування обраного штаму *Chlorella vulgaris* саме на середовищі модифікована Тамія.
4. Розроблено технологічну і апаратурну схеми культивування мікроводоростей з подальшим одержанням біодизельного палива, згідно обраних параметрів стадії культивування, та розроблено креслення колонного фотобіореактора з вертикальною перегородкою.
5. Було запропоновано пропозиції та заходи щодо забезпечення охорони праці, техніки безпеки, охорони довкілля, згідно до ДСТУ та ДБН.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						99
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Чернова Н.И., Коробкова Т.П. //Современное состояние и перспективы использования микроводорослей в энергетических целях//Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова// Москва, 2010-С.1.
2. Золотарьова О. Куди прямує біопаливна індустрія? / Золотарьова О., Шнюкова Є. //Вісник НАН України, 2010. – № 4.
3. Чернова, Н. И. Эффективность производства биодизеля из микроводорослей / Н. И. Чернова, С. В. Киселева, О. С. Попель // Энергосбережение, новые и возобновляемые источники энергии. – 2014. – С. 14 – 21.
4. Чернова, Н. И. Использование биомассы для производства жидкого топлива: современное состояние и инновации / Н. И. Чернова, Т. П. Коробкова, С. В. Киселева // Теплоэнергетика. – 2012. – № 11. – С. 28 – 35.
5. Chisti Y. Biodiesel from microalgae / Y. Chisti // Biotechnology Advances. - 2007. – Vol. 25. – № 3. – P. 294–306.
6. Schenk P. M. Second generation biofuels: High-efficiency microalgae for biodiesel production / P.M. Schenk, S.R. Thomas-Hall, E. Stephens, U. Marx, J. Mussnug, C. Posten, O. Kruse, B. Hankamer // BioEnergy Res. – 2008. Vol. 1. – № 5. – P. 20–43.
7. Трошина О.Ю. Метаболизм азота и водорода у гетероцистных цианобактерий: автореф.дис. ...канд. Биол. Наук.- М.-2000.-21с.
8. Коротких, А. А. Мировой рынок биотоплива: состояние и перспективы /А. А. Коротких // Электронный научный журнал Россия и Америка в XXI веке – 2008.
9. Ayhan Demirbas, Use of algae as biofuel sources, Energy Conversion and Management, Volume 51, Issue 12, December 2010.
10. J.Singh. Renewable and sustainability energy. Reviews 14 (2010).

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						100
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

11. Соловченко, А. Е. Физиологическая роль накопления нейтральных липидов эукариотическими / А. Е. Соловченко // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 2. – С. 192 – 202.
12. Sh.shaishow and Coworkers. Biohydrogen from algae: fuel of the future. Int.Res.J. of Environment Sci. 2013, V.2 (4). 44-47.
13. Седова, Т. В. Основы цитологии водорослей / Т. В. Седова – Л. : Наука, 1977. – 172 с.
14. Gouveia, Luisa. Microalgae as a Feedstock for Biofuels / Luisa Gouveia. – Springer, 2011. – 69 p.
15. Jegathese, S. J. P. & Farid, M. Microalgae as a renewable source of energy: A niche opportunity. Journal of Renewable Energy 2014.
16. Варфоломеев С.Д. Простагландины – новый тип биологических регуляторов //Соросовский Образовательный Журнал. 1996, №1,, С.40-47.
17. Кучеренко Н.Е., Васильев А.Н . Липиды. Киев: Выща шк., 1985.
18. R. Halim, M. K. Danquah, and P. A. Webley, “Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: a review,” Biotechnology Advances, vol. 30, no. 3, pp. 709–732, 2012.
19. M. A. Borowitzka and N. R. Moheimani, “Algae for biofuels and energy,” Algae for Biofuels and Energy, pp. 1–288, 2013.
20. Lam MK, Tyusoff MI, Uemura Y, Lim JW, Khoo CG, Lee KT, Ong HC 2017 Cultivation of Chlorella vulgaris using nutrients source from domestic wastewater for biodiesel production : growth condition and kinetic studies Renew: 197-207.
21. Kaware M, Prartono T, Rachmat A, Sari D, and Augustine D 2012 Laju pertumbuhan spesifik dan kandungan asam lemak pada mikroalga Spirulina platensis dan Porphyridium cruentum Ilmu Kelautan.- 125-131.
22. Yang IS, Salama ES, Kim JO, Govindwar SP, Kurade MB, Lee M, Roh HS, Jeon B.H. 2016. Cultivation and harvesting of microalgae in

photobioreactor for biodiesel production and simultaneous nutrient removal. Energ Conver Manage. - 54–62.

23. Yang F. A Novel Lipid Extraction Method from Wet Microalga Picochlorum sp at Room Temperature / F. Yang, W. Xiang, X. Sun // Marine Drugs. – 2014. – N 12. – P. 1258 – 1270.

24. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: a review/ Halim Ronald [et al.] // Biotechnology Advances. – 2012. – Vol. 30. – P. 710 – 731.

25. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae / Lee Jae-Yon [et al.] // Bioresource Technology. – 2010. – Vol. 101. – P. 575 – 577.

26. Optimization of an Analytical Procedure for Extraction of Lipids from Microalgae / E. Ryckebosch [et al.] // Journal of the American Oil Chemists' Society. – 2012. – Vol. 89. – P. 189 – 198.

27. Terpenes as Green Solvents for Extraction of Oil from Microalgae / D. T. Céline // Molecules. – 2012. – Vol. 17. – P. 8196 – 8205.

28. Mamidipally, P. K. First approach on rice bran oil extraction using limonene / P. K. Mamidipally, S. X. Liu // Eur. J. Lipid Sci. Technol. – 2004. – N 106. – P. 122 – 125.

29. Extraction of lipids from microalgae by ultrasound application: Prospection of the optimal extraction method / S. Araujo Glacio, J. B. L. Leonardo Matos, Jader O. Fernandes [et al.] // Ultrasonics Sonochemistry. – 2013. – Vol. 20 (1). – P. 95 – 98.

30. McConnell, B. Kinetics Study of the Solvent Extraction of Lipids from Chlorella vulgaris / B. McConnell, I. H. Farag // International Journal of Engineering and Technical Research (IJETR). – 2013. – N 1(10). – P. 28 – 38.

31. Упитис В.В. Макро- и микроэлементы в оптимизации минерального питания микроводорослей/ Отв. Ред. А.Ф.Ноллендорф. – Риг; Зинатне, 1983. – 240с.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						102
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

32. Tamiya, H. Mass culture of algae / H. Tamiya // Ann Rev Plant Physiol. – 1957. – N 8. – С. 309 – 334.

33. Музафаров, А. М. Культивирование и применение микроводорослей / А. М. Музафаров, Т. Т. Таубаев – Ташкент : Изд-во «Фан» Узбекской ССР, 1984. – 136 с.

34. Vonshak, A. Laboratory techniques for the cultivation of microalgae In: A. Richmond (ed.) / A. Vonshak // Handbook of microalgal mass culture. – CRC Press, Boca Raton FL, 1986. – P. 117 – 145.

35. Ramkumar, K. Mandalam. Elemental Balancing of Biomass and Medium Composition Enhances Growth Capacity in 88 High-Density Chlorella vulgaris Cultures / K. Mandalam Ramkumar, Bernhard Ø. Palsson // John Wiley & Sons, Inc. – 1998. – P. 605 – 611.

36. Wijanarko, A. Effect of the Presence Of Substituted Urea and Also Ammonia as Nitrogen Source in Cultivied Medium on Chlorella Lipid Content, Progress in Biomass and Bioenergy Production\\2014., P. 4-6.

37. Held, P. Determination of Algal Cell Lipids Using Nile Red – Using Microplates to Monitor Neutral Lipids in Chlorella Vulgaris.//2015.

38. Held, P. Monitoring of Algal Growth Using Their Intrinsic Properties// 2015.

39. Ауджанова, В. К. Морфологические и систематические характеристики хлореллы. Ее производство и применение / В. К. Ауджанова // Научный вестник. – 2014. – № 1 (1). – С. 113 – 126.

40. Araujo, S. G. Bioprospecting for oil producing microalgal strains: Evaluation of oil and biomass production for ten microalgal strains//2015.

41. Седова, Т. В. Основы цитологии водорослей / Т. В. Седова – Л. : Наука, 1977. – 172 с.

42. Влияние имидазола на обмен жирных кислот при восстановлении клеток хлореллы после азотного голодания / Г. Л. Клячко-

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						103
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Гурвич, Т. С. Рудова, Е. С. Кованова, В. Е. Семененко // Физиология растений. – 1973. – № 20(3). – С. 326 – 331.

43. И.В. Грибовская, Г.С. Калачёва, Л.С. Тирранен, А.А. Колмакова, Ю.И. Баянова, // Использование урины в питании *Chlorella vulgaris* // Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук, Россия // 2011-С.14.

44. Березов Т.Т., Коровин Б.Ф. (2002) Биологическая химия. М.: Медицина, 704 с.

45. Волова Т.Г. Биотехнология/ Отв.ред. И.И. Гительзон. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 1999. – 252 с.

46. Жаворнков В.А., Махоткина Т.А., Макеев П.П. // 4 Всес.конф. Управляемое культивирование микроорганизмов. Тез. Докл. ОНТИ НЦБИ – 1986 – С.113 (цит. по А.А. Циганкову, 2001).

47. Ждан-Пушкина С.М. Основы роста культур микроорганизмов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1983.- 187с.

48. Перт С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. – Мир; 2000 – 331С.

49. Перспективи використання мікрроводоростей у біотехнології / О.К. Золотарьова, Є.І. Шнюкова, О.О.Сиваш, Н.Ф. Михайленко; пфд редак. О.К. Золотарьової. – К.: Альтерпрес, 2008. – 234 С.

50. Рустамов Н. А. Биомасса как источник энергии // Энергия: Экономика. Техника. Экология. — 2005. — № 6. — С. 20–23.

51. Ugwu C. U. et al. Photobioreactors for mass cultivation of algae // Bioresource Technology. — 2008. — V. 99. — P. 4021–4028.

52. Sheehan J., Dunahay T., Benemann J., Roessler P. A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program — Biodiesel from Algae. — National Renewable Energy Laboratory, 1998. — 328 p.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						104
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

53. Цоглин Л.Н. , Габель Б.Н., Фалькович Т.Н. Семененко В.Е. Фотобиореакторы закрытого типа для культивирования микроводорослей // физиол.раст. -1996. –С.149-155.

54. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review / C. Y. Chen, K. L. Yeh, R. Aisyah [et al.] // Bioresource Technology. – 2011. – N 102. – P. 71 – 81.

55. Цыганков А.А. Лабораторные фотобиореакторы // приклад. Биохим. И микробиол. – 2001. - №4.- С.387-397.

56. Патент України на винахід № 110770 UA, МПК (2006.01), C12N1/12, C12M1/42, C12R1/89. Спосіб культивування мікроводоростей *Chlorella vulgaris* / Голуб Н.Б., Левтун І.І. № а201509805; Заявл. 09.10.2015; Опубл. 10.02.2016; Бюл. № 2, 2016 р.

57. Закон «Про охорону праці». Режим доступу: <http://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2694-12>

58. ДСН 3.3.6.037-99 «Санітарні норми виробничого шуму, ультразвуку та інфразвуку». Режим доступу: <http://arm.te.ua/docs/DSN-3.3.6.037-99.pdf>

59. ДСН 3.3.6.042-99 «Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень». Режим доступу: <http://zakon2.rada.gov.ua/rada/show/va042282-99>

60. Правила улаштування електроустановок, 2017р. Режим доступу: <https://ua.energy/wpcontent/uploads/2018/06/%D0%9F%D0%A3%D0%95.pdf>

61. ДСТУ Б В.1.1-36:2016 «Визначення категорій приміщень, будинків та зовнішніх установок за вибухопожежною та пожежною небезпекою». Режим доступу: http://online.budstandart.com/ua/catalog/docpage.html?id_doc=65419

62. ДБН В.1.1-7-2002 «Пожежна безпека об'єктів будівництва. Загальні вимоги». Режим доступу: http://online.budstandart.com/ua/catalog/docpage.html?id_doc=68456

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						105
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

63. «Біодизель».

Режим

доступу:

<http://rea.org.ua/dieret/Fuels/biodiesel.html>

64. Н.П. Дмитривич, А.С. Крыльчук, Н.А. Симончик. //Влияние питательной среды и интенсивности барботажа на динамику физиологических параметров роста хлореллы, // Полесский государственный университет, // г.Пинск, Беларусь. – 2016.

					ЕКБ.БЕ5101.ДП	Арк.
						106
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		